

Laboratorio de Fisiología General del C.S.I.C.
Facultad de Medicina. — Valencia
(Prof. J. García-Blanco)

La degradación de los azonaftalenos por homogenados de hígado

por
J. Viña

(Recibido para publicar el 24 de octubre de 1961)

La observación de que el 2-2'azonaftaleno produce cáncer de hígado (colangiomas) sin distinción de la vía empleada en su administración hizo pensar que dicha sustancia no fuese cancerígena, sino un producto de su degradación y que dicha degradación en principio fuese efectuada por el propio parénquima hepático. También se conocía que homogenados de riñón son capaces de manifestar una actividad semejante a la del hígado al romper reductivamente los puentes azo, como ocurre con el dimetilaminoazobenzol, al cual escinde en anilina y dimetil-para-fenilen-diamina, si bien dicha ruptura se verifica con mucha lentitud (1, 2). Dichas sustancias sufren una ulterior acetilación por el propio homogenado cuando previamente han sido oxidadas y desmetiladas, pudiéndose encontrar N-acetil-para-amino-fenol y N-N'-diacetil-fenilen-diamina (5).

La identificación de los compuestos resultantes de la degradación del 2-2'azonaftaleno es el objeto del presente trabajo.

Disponiendo también de 1-1'azonaftaleno hemos seguido con este cuerpo la misma metódica que con el anterior tratando de establecer las posibles analogías en la degradación de estas dos sustancias por el organismo animal.

Material y métodos

En nuestras experiencias hemos empleado hígados de ratas normales con los cuales hemos preparado homogenados siguien-

do la técnica habitual. Se han dispuesto en todos los casos dos series de experimentos, uno de los cuales servía de testigo y en el otro se agregaba la sustancia a estudiar. La vasija con homogenado y azonaftaleno y la testigo se mantenían durante dos horas en estufa a 37° al término de las cuales se agregaba a cada una 6 ml. de etanol y se filtraba una hora más tarde. Cada filtrado se divide en dos partes iguales y se pasa a tubos de ensayo. A una parte de cada filtrado se adiciona ácido sulfanílico, unos cristales de nitrito y unos 2 ml. de ácido acético glacial, haciendo las lecturas colorimétricas a las 24 horas.

Resultados

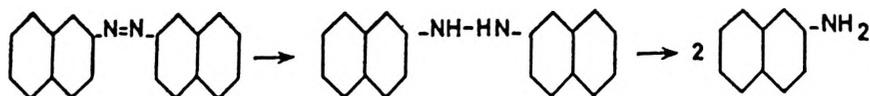
Con 2-2'azonaftaleno se observa que el tubo con homogenado testigo al que se ha agregado ácido sulfanílico, nitrito y acético da un color amarillo pálido, de que carece el testigo sin estos reactivos. En los tubos del homogenado problema, la adición de los reactivos ha desarrollado un color rojizo, mientras que sin ellos aparece un color amarillo pálido.

Los resultados obtenidos tras la lectura del 1-1'azonaftaleno son iguales a los anteriores salvo que en el tubo del homogenado testigo al cual no se le ha agregado nada aparece un color amarillo debido al colorante que no se ha degradado.

Discusión

Interpretamos la aparición del color amarillo como el resultado de la formación de un azoderivado procedente de la copulación del ácido sulfanílico con cualquier cuerpo presente en el homogenado que tenga un grupo amínico, los cuales presumiblemente son varios; o también de la copulación del propio ácido sulfanílico consigo mismo.

En los tubos del homogenado problema el color rojo que aparece por adición de los reactivos creemos debe atribuirse a la copulación de la naftilamina con el ácido sulfanílico y que dicha naftilamina forzosamente ha de proceder de la escisión por hidrogenación del azonaftaleno, tanto del 1-1' como del 2-2' según el siguiente esquema:



Ello explicaría el que aún no siendo de por sí cancerígeno el 2-2'azonaftaleno provoque cáncer de hígado con independencia de la vía de administración, debido a su transformación en β -naftilamina, que es cancerígena. En cambio, el 1-1'azonaftaleno no lo produce porque a partir de él se formaría naftilamina, que no lo es.

El mecanismo del desdoblamiento reductivo del puente azo lo verifican los homogenados de hígado con la colaboración de dos sistemas enzimáticos: uno que reduce al nicotamin adenin dinucleótido fosfato (NADP) con la ayuda de la glucosa-6-fosfato y otro que desdobla con ayuda del NADPH₂ la unión azo en forma reductiva. El primero de estos sistemas enzimáticos está contenido en el líquido citoplasmático de las células hepáticas y el segundo en la fracción granular, especialmente en los microsomas. Esto se ha demostrado viendo que los microsomas son capaces de verificar dicha reducción con sólo agregar NADPH₂ (3, 4).

Si se priva al homogenado del NADP por diálisis del mismo a baja temperatura, previa saturación con CO₂, cesa su actividad, que renueva al agregársele el coenzima.

Resumen

El hígado parece escindir por hidrogenación las moléculas de 1-1'azonaftaleno y 2-2'azonaftaleno, dando como productos resultantes de ellos las correspondientes naftilaminas alfa y beta respectivamente.

Se interpreta con ello el distinto comportamiento de estos dos productos en la producción de cáncer de hígado, ya que la β -naftilamina derivada es cancerígena, mientras que la alfa no lo es.

Summary

The degradation of the azonaphthalenes by liver homogenates

The object of study is the degradation of the 2-2'azonaphthalene and of the 1-1'azonaphthalene by homogenates of the liver of rats. After incubation for two hours at 37°, an investigation is made into the apparition of colour in the filters of the precipitation with ethanol by the addition of sulphanilic acid, nitrite and acetic acid. The results suggest the reductive unfolding of the azo bridge with the collaboration of two enzymatic systems.

The degradation of the 1-1'azonaphthalene would produce noncancerigenous naphthylamine, while that of the 2-2'azonaphthalene would produce cancerigenous naphthylamine, which would explain the production of cancer of the liver by 2-2'azonaphthalene, injected by whatsoever way.

Bibliografía

- (1) KINOSITA, R.: *Yale J. Biol. Med.*, **12**, 287, 1940.
- (2) MILLER, J. A. y C. A. BAUMANN: *Cancer Res.*, **5**, 227, 1945.
- (3) MUELLER, G. C. y J. A. MILLER: *J. Biol. Chem.*, **180**, 1125, 1945.
- (4) MUELLER, G. C. y J. A. MILLER: *J. Biol. Chem.*, **185**, 145, 1950.
- (5) STEVENSON, E. S., DOBRINER, K. y C. P. RHOADS: *Cancer Res.*, **2**, 160, 1942.