

Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología
Universidad de Buenos Aires
Departamento de Aplicaciones, Comisión Nacional de Energía Atómica
Buenos Aires (Rep. Argentina)

Efecto de la inanición sobre los glucosaminoglucanos de la piel y tráquea de rata

por

J. A. Kofoed * y C. E. Bozzini *

(Recibido para publicar el 27 de julio de 1968)

Ha sido demostrado por KOFOED y ROBERTSON (2) que la síntesis de condroitín-4-sulfato en el cartílago traqueal del cobayo desciende cuando se disminuye a 5 g la cantidad de alimento que se da a los animales diariamente; y más recientemente, SOBEL y col. (4) mostraron que en el ratón sometido a ayuno existe una importante disminución en la concentración de ácido hialurónico y condroitín-4-sulfato en la piel. Estas observaciones sugieren que la ingesta, directa o indirectamente, es capaz de influir la magnitud de la síntesis de los glucosaminoglucanos sulfatados y no sulfatados en diversos tejidos.

Con el objeto de corroborar y extender estas observaciones, hemos estudiado el efecto de diversos períodos de ayuno sobre la concentración del ácido hialurónico y de los glucosaminoglucanos sulfatados en piel y cartílago traqueal de rata.

Material y métodos

Fueron utilizadas 54 ratas de la cepa Wistar, cuyo peso al iniciarse los experi-

mentos osciló entre 300 y 330 gramos, siendo divididas en 9 grupos de 6 animales cada uno. Uno de ellos fue considerado *control* y recibió la dieta balanceada habitual (Forramez Lab, Molinos Río de la Plata, Argentina), mientras que los restantes fueron sometidos a períodos variables de ayuno; el agua fue proporcionada a voluntad; 24 horas antes de la finalización de cada período de ayuno los animales fueron inyectados por vía intraperitoneal con S³⁵-sulfato en la dosis de 1 Mc/kilo de peso, siendo sacrificados al cabo del correspondiente período. Se extrajo entonces la tráquea y la mayor cantidad posible de piel abdominal.

Los tejidos obtenidos fueron desengrasados y deshidratados en éter-acetona

* Miembro de la Carrera de Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. República Argentina.

(1 : 1 v/v) durante 36 horas, cambiándose dos veces la solución durante ese período. Una alícuota de los tejidos secos y desengrasados fue digerida con papaína durante 48 horas. Todo residuo proteico no digerido, invariablemente mínimo en todos los casos, fue precipitado con ácido tricloroacético a una concentración final del 5%. Los glucosaminoglucanos crudos totales fueron precipitados mediante la adición de 3 volúmenes de acetato de potasio al 5% en etanol. Este extracto fue entonces fraccionado en microcolumnas de celulosa mediante la formación de complejos cloruro de cetilpiridinium-glucosaminoglucanos y su posterior elución con soluciones salinas de molaridad creciente de acuerdo a la técnica de SVEJCAR y ROBERTSON (5). La concentración de los ácidos urónicos totales en cada fracción fue determinada según el método de BITTER y MUIR (1) y la actividad específica del S³⁵-sulfato mediante el conteo de las muestras en un contador a flujo de gas.

Resultados

El promedio de la concentración de ácidos urónicos totales, actividad específica del S³⁵-sulfato y concentraciones de ácidos hialurónico y glucosaminoglucanos en piel y tráquea de ratas controles y sometidas a diversos períodos de ayuno, se muestra en la tabla 1. Su análisis indica que la concentración de ácidos urónicos desciende tanto en tráquea como en piel a partir del 3.º-4.º día de ayuno. Esta disminución es producida principalmente por el descenso de la concentración de ácido hialurónico, ya que la correspondiente a la de los glucosaminoglucanos sulfatados permanece prácticamente invariable.

La actividad específica del S³⁵-sulfato en piel expresada en cpm/mg de ácidos urónicos totales, muestra un descenso a partir del 3.º-4.º día de iniciado el ayuno, no encontrándose variaciones estadísticamente, significativas a nivel del cartílago traqueal.

TABLA I

Efecto de la inanición sobre el contenido ($\mu\text{g/g}$) de ácido urónico (AU); ácido hialurónico (AH); y glucosaminoglucanos sulfatados (GAGS) y de la actividad específica de cada fracción (cpm/mg)

Días ayuno	P I E L				T R A Q U E A			
	AU totales	Actividad específica *	AU como AH *	AU como GAGS *	AU totales	Actividad específica	AU como AH	AU como GAGS
0	1.070 \pm 24	2560	420	670	27,4 \pm 2,2	256,3	2,9	24,2
1	1.020 \pm 11	2574	—	—	26,9 \pm 2,9	242,6	—	—
2	1.040 \pm 16	2320	340	660	27,6 \pm 3,1	283,4	2,3	25,0
3	1.030 \pm 13	2402	—	—	27,4 \pm 1,7	261,1	—	—
4	990 \pm 36	2400	290	640	26,1 \pm 2,6	268,3	1,1	24,4
5	910 \pm 14	2380	—	—	25,7 \pm 2,9	270,9	—	—
6	870 \pm 38	2160	200	660	25,1 \pm 2,1	244,7	0,6	24,3
7	840 \pm 16	2060	—	—	24,5 \pm 3,6	248,9	—	—
8	800 \pm 24	1690	160	630	23,6 \pm 1,8	265,3	0,5	23,2

* Pool de 6 animales.

Discusión

Considerando a los glucosaminoglucanos como una sola fracción, el ayuno provoca un descenso en su concentración en piel y cartílago traqueal a partir del 3.º al 4.º día de su iniciación, que se acentúa hasta el 8.º día, el período de tiempo más largo estudiado. Como la vida media de los glucosaminoglucanos en piel varía entre 3 y 9 días aproximadamente (3), es posible suponer que la disminución de su concentración no se produzca antes del período de ayuno indicado y haría suponer también que este descenso es el resultado de la acción acumulativa de su catabolismo normal en presencia de una síntesis inadecuada.

Si consideramos ahora a los glucosaminoglucanos como dos fracciones, una sulfatada y una no sulfatada, observamos que la disminución de su concentración total se hace a expensas de la fracción no sulfatada, ya que la concentración de la fracción sulfatada permanece inalterable.

Por extrapolación de los resultados encontrados por KOFOED y ROBERTSON (2) en el cobayo que recibe una cantidad de alimento menor que el normal, en el que se encontró una disminución de la incorporación de acetato- C^{14} al ácido hialurónico de tráquea, es posible postular que la síntesis de este compuesto está disminuida en el ayuno y que el descenso de su concentración es debido a su vida media relativamente breve.

Como la concentración de la fracción sulfatada permanece prácticamente invariable durante el período de ayuno estudiado, la actividad específica del S^{35} -sulfato debería aumentar en presencia del descenso observado en la concentración de ácidos urónicos totales. Sin embargo, desciende en piel y permanece constante en tráquea. La mejor interpretación para estos hechos parecería ser la existencia de una disminución en la magnitud de síntesis de la fracción sulfatada, lo que

produce un descenso de la incorporación de S^{35} -sulfato en ella, que no se manifiesta en la concentración debido a que el condroitín sulfato posee una vida media larga en relación con la duración del experimento.

La causa por la cual la inanición produce una disminución en la magnitud de síntesis de los glucosaminoglucanos no está debidamente aclarada, siendo necesarios nuevos experimentos para aclararla. SOBEL (4) ha postulado que durante el ayuno existe una pérdida de la proteína extravascular de la piel y que ésta sería responsable de la disminución de la síntesis del ácido hialurónico. En este caso, los fenómenos observados serían sólo el efecto indirecto de la inanición.

Resumen

Se sometieron varios grupos de ratas a períodos variables de inanición, inyectándolos 24 horas antes de muertos con 1 Mc/kg de peso de S^{35} -sulfato. Se extrajo tráquea y piel abdominal, de los que se aislaron y purificaron los glucosaminoglucanos, determinándose ácidos urónicos totales y actividad específica en cada fracción de glucosaminoglucanos.

La concentración de ácidos urónicos desciende, en tráquea como en piel, a partir del 3.º al 4.º día de ayuno. Esta disminución es producida principalmente por el descenso de la concentración de ácido hialurónico, permaneciendo invariables los glucosaminoglucanos sulfatados.

La actividad específica del S^{35} -sulfato en piel, muestra un descenso a partir del 3.º-4.º día de iniciado el ayuno, no encontrándose variaciones significativas a nivel del cartílago traqueal.

Summary

Effect of Inanition on Glucosamineglucans of the Skin and Trachea of Rats

The effect of different periods of inanition on the glucosamineglucans concen-

tration in skin and trachea of male Wistar rats was studied. 24 hours prior to killing animals were injected with S^{35} -sulfate (1 Mc/Kg B.W.).

Total uronic acids and specific activity were determined on the isolated glucosaminoglucans from trachea and abdominal skin. Uronic acid concentration decreases in both tissues after three-four days of inanition. This diminution is due mainly to a decrease in hyaluronic acid concentration, with no changes in the sulfated fraction.

Specific activity of S^{35} -sulfate in skin shows a decrease after 3-4 days of inani-

tion, remaining the tracheal cartilage without changes

Bibliografía

1. BITTER, T. y MUIR, H. M.: *Anal. Biochem.*, **4**, 330, 1962.
2. KOFOED, J. A. y ROBERTSON, W. VAN B.: *Biochem. Biophys. Acta*, **124**, 86, 1966.
3. SCHILLER, S., MATHEWS, M. B., CIFONELLI, J. A. y DORFMAN, A.: *J. Biol. Chem.*, **218**, 139, 1916.
4. SOBEL, H., HEWLETT, M. J., HOSHEK, S. y SACKER, I.: *Am. J. Physiol.*, **212**, 773, 1967.
5. SVEJCAR, J. y ROBERTSON, W. VAN B.: *Anal. Biochem.*, **18**, 333, 1967.