R. esp. Fisiol.
Tomo V. núm. 2. páginas 131 a 133. 1949.

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Sección de Fisiología Animal - Barcelona
(Profesor F. Ponz)

Efecto del aloxano sobre la fosfatasa ácida

por F. Ponz y J. Larralde

(Recibido para publicar el 12 de abril de 1949)

En un trabajo previo (2) hemos estudiado la inhibición de la fosfatasa alcalina por el aloxano, atribuyéndola principalmente no al propio aloxano, sino al desplazamiento del pH, a pesar de la amortiguación y a los productos de transformación del aloxano al encontrarse en medio francamente alcalino (3).

No encontramos datos sobre la acción del aloxano *in vitro* sobre la actividad de las fosfatasas ácidas, y hemos creído conveniente investigarlo, ya que en tales condiciones la estabilidad del producto es mucho mayor (1,3) y el desplazamiento del pH fácilmente evitable por la amortiguación ordinaria. Se prefirió trabajar con fosfatasas ácidas hepáticas, por la relación que pudieran tener con la diabetes aloxánica.

Métodos

Se preparaban autolizados de hígado de rata blanca en 25 veces su peso de agua clorofórmica durante 24 horas. La determinación de la actividad fosfatásica en medio ácido se hacía con glicerofosfato sódico M/50, amortiguando a pH 5 con acetato-veronal-ClH (Michaelis), en hidrólisis de una hora a 37° según costumbre (4). El fosfato inorgánico se valoraba por la reacción del azul de molibdeno. Aloxano de la B. D. H., preparando sus soluciones inmediatamente antes de uso. Las concentraciones finales de aloxano eran entre 0'05 M y 0'00005 M.

Resultados

Se prepararon series de tubos de ensayo con 2 c. c. de substrato, 5 c. c. de solución amortiguadora y solución de aloxano y agua hasta un volumen de 9 c. c., agregando 1 c. c. de la solución de fosfatasas.

La tabla muestra los resultados promedios de varias series, refiriendo a la actividad normal en ausencia de aloxano que se valora como 100.

TABLA I

Inhibición de la actividad fosfatásica ácida de autolizados de hígado por el aloxano.

Concentraciones de aloxano (M)	Actividad	Concentraciones de aloxano (M)	Actividad
0,	100	0,001	100
0,00005	100	0,0025	100
0,0001	100	0,005	99
0,00025	100	0,0075	87
0,0005	100	0,010	79
		0,025	54

Las concentraciones de aloxano utilizadas no eran capaces de desplazar el pH 5 del medio, con lo que los efectos han de atribuirse a la inhibición de la fosfatasa por el aloxano o por eventuales productos de desintegración de éste, en el curso de los 60 minutos de hidrólisis.

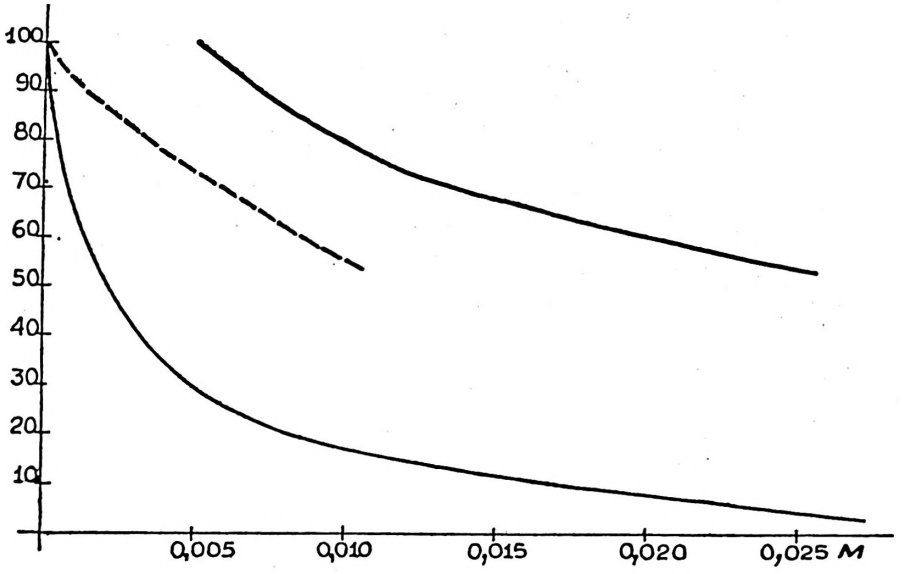

Figura 1.— Inhibición de fosfatasas por el aloxano. En ordenadas, actividades referidos a 100 como valor normal; en abscisas, concentraciones molares de aloxano.

Efectos sobre la fosfatasa ácida ——. Efectos sobre la fosfatasa alcalina ——. Efectos sobre la fosfatasa alcalina llevando previamente el aloxano hasta pH9'4 con NaOH — — —.

Se observa una clara inhibición, pero sólo a partir de concentraciones de 0'0075 M y superiores, no alcanzando el 20 % de inhibición hasta la de 0'01 M aproximadamente. Con esta última concentración, la actividad de la fosfatasa alcalina de intestino se inhibía ya más de un 80 %; y con aloxano llevado previamente hasta pH 9'4 con NaOH, la misma concentración inhibía todavía un 45 % a la fosfatasa alcalina. En la figura 1 se observa bien esta diferencia de comportamiento del aloxano frente a las fosfatasas ácidas y alcalinas.

El resultado es una prueba más de la diferente constitución química de ambas clases de enzimas. Además de que al ser más estable el aloxano en medio ácido que en medio alcalino, el inhibidor eficaz de las fosfatasas alcalinas puede ser distinto del que inhibe más débilmente las ácidas.

Resumen

El aloxano ejerce un efecto inhibidor sobre la fosfatasa ácida de hígado de rata. Esta inhibición es mucho más débil que sobre las fosfatasas alcalinas.

Summary

The inhibition of hepatic acid phosphatase by alloxan in vitro has been examined. At concentration 0'01 M the inhibition was only about 20 %. Concentrations 0'05 M and lower are not effective. The alloxan inhibition on acid phosphatase is very lesser than that found on the alkaline one.

Bibliografía

1. Archibald, R. M.: *J. Biol. Chem.*, **158**, 347 (1945).
2. Larralde, J. y F. Ponz: *R. esp. Fisiol.*, **5**, 37 (1949).
3. Patterson, J. W., A. Lazarow y Levey Stanley: *J. Biol. Chem.*, **177**, 187 (1949).
4. Sols, A. y F. Ponz: *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283 (1946).