

CARACTERISTICAS DE LA INDUCCION DE ATP:D-HEXOSA-6-FOSFOTRANSFERASA EN HIGADO DE RATA

Characteristics of the induction of ATP:D-hexose-6-phosphotransferase in rat liver.

LYLLIAN CLARK-TURRI, CARMEN GONZÁLEZ, NORMA PÉREZ, ELIANA RABAJILLE
y HERMANN NIEMEYER.

Instituto de Química Fisiológica y Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Recibido para su publicación el 3 de Junio de 1964.

RESUMEN

Se precisan las características generales de la inducción de ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa (**) provocada por el suministro de hidratos de carbono a ratas alimentadas previamente con una dieta hipergrasa y aglucídica. La glucosa se administró por sonda gástrica (solución de glucosa al 20% y de maltosa-dextrina al 30%, 3 ml, dos veces separada por 3 ó 4 horas de intermedio) o por vía intraperitoneal (solución de glucosa al 10 ó 20% 1 ml cada 6 horas) o por vía endovenosa.

Los animales más jóvenes mostraron una respuesta mayor que los de mayor edad. Las hembras respondieron en forma semejante a los machos. El estudio de la cinética de la inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa mostró un aumento rápido de la enzima después de la administración de glucosa y un descenso lento al suprimirla. Se discute el significado fisiológico de estos resultados. En cuanto al mecanismo de su producción, se considera que el aumento de actividad enzimática puede corresponder a inducción enzimática.

INTRODUCCIÓN

La actividad de diversas enzimas del hígado se modifica cuando los animales son alimentados con dietas que difieren en su composición con respecto a proteínas, grasas e hidratos de carbono (1, 2). Nuestra atención se ha dirigido al estudio de la influencia que tiene el aporte de glúcidos sobre algunas de las enzimas directamente relacionadas con la utilización de los hidratos de carbono.

La ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa (hexoquinasa) (EC2.7.1.1.) parece ser la enzima del hígado que depende más estrechamente del suministro de glúcidos en la alimentación. Esta afirmación se basa en las siguientes pruebas experimentales: 1) La actividad enzimática máxima, referida al hígado total, se obtiene en animales alimentados con una dieta compuesta exclusivamente de hidratos de carbono (3, 4); 2) La actividad específica más alta (referida a proteínas totales del hígado) se observa también con esta dieta y disminuye hasta un quinto a medida que se reemplaza el glúcido por grasa o por proteína (4). 3) La actividad de la fosfotransferasa que ha descendido al someter los animales a un ayuno de varios días o a una dieta exenta de glúcidos, vuelve a los valores normales si se realimentan las ratas con una dieta equilibrada o sólo con glucosa (2-5).

Si bien la actividad de la α -glucan-fosforilasa (EC 2.4.1.1) y de la UDPglucosa

(*) Esta investigación fue financiada parcialmente por la Facultad de Medicina, Universidad de Chile (Proyectos 60-41 y 65-50) y por la Fundación Rockefeller (Grant 60333), bajo un programa conjunto.

Los resultados de este trabajo fueron presentados a la Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Santiago, Noviembre 1962, (Arch. Biol. Med. Exper. 1:91, 1964).

(**) Se ha preferido la denominación de ATP:D-hexosa-6-fosfotransferasa, debido a la confusión que existe en este momento sobre las propiedades que distinguirían a las llamadas hexoquinasa y glucoquinasa. Por conveniencia de expresión se referirá ocasionalmente como ATP:hexosa-fosfotransferasa o aún simplemente como fosfotransferasa.

α -glucan-glucosiltransferasa (EC 2.4.1.11) depende también del suministro de hidratos de carbono (2, 3, 4, 6), los cambios no son de la magnitud de los observados en la ATP:hexosa fosfotransferasa ni ocurren con la misma velocidad. La actividad de otras enzimas directamente vinculadas a la utilización de los azúcares depende, por otra parte, del aporte de proteínas, o del suministro simultáneo de proteínas y una pequeña proporción de hidratos de carbono, o son independientes de la naturaleza de la dieta (2, 4, 7).

El propósito de esta comunicación es definir algunas características del aumento de la actividad de la ATP:hexosa fosfotransferasa bajo la influencia del suministro de glucosa (o maltosa-dextrina) a ratas previamente alimentadas con una dieta exenta de glúcidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon ratas albinas criadas en este Instituto. Salvo cuando se indica especialmente, se trabajó en machos con un peso aproximado de 200 g. Los animales se mantenían en una pieza a temperatura constante (26-28°C), con períodos alternados de iluminación y oscuridad de 12 horas. Desde unas 2 ó 3 semanas antes de iniciar cada experimento, las ratas eran trasladadas a jaulas individuales donde recibían el alimento molido, con el objeto de acostumbrarlas a las condiciones en que se realizaban los experimentos.

Todas las dietas experimentales contenían las mismas cantidades de sales y vitaminas por cada 100 calorías calculadas (6). La proporción de hidratos de carbono (maltosa-dextrina), proteínas (caseína) y grasa (margarina y aceite vegetal) fue la siguiente (las cifras indican el porcentaje del total de calorías): a) Dieta equilibrada: glúcidos, 65; proteínas, 27; grasas, 5. b) Dieta hipergrasa: proteínas, 21; grasas, 79. c) Dieta hidrocarbonada: glúcidos, 100. La muerte de los animales se obtuvo por decapitación sin anestesia, después se les dejó desangrar. El hígado era extraído rápidamente, colocado sobre hielo molido y enjugado con papel filtro para eliminar la mayor cantidad posible de sangre. Se homogenizaron trozos de unos 300 a 500 mg del lóbulo lateral izquierdo en un medio de la siguiente composición milimolar: KCl 100; glicilglicina 25, pH 7,5; EDTA (etilendiamina tetracetato) 6; y MgCl₂ 6. El homogenizado fue centrifugado a 105.000 x g durante 20 minutos en una ultracentrífuga Spinco, modelo L. Se utilizaron alícuotas del líquido sobrenadante para el ensayo enzimático. La composición final (mM) del medio de ensayo era la siguiente: KCl 10; glicilglicina 85 pH 7,5; MgCl₂, 12,6; glucosa 25; ATP 3,3; EDTA 1,6; NADP (fosfato de nicotinamida-adenín-dinucleótido) 0,5 (6). Además

se colocaba un exceso de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y de 6-fosfogluconato deshidrogenasa. Se utilizó como blanco un sistema semejante en el cual se omitía el ATP. La actividad enzimática se midió por la formación de NADPH₂ reconocida por el incremento en la absorbancia a 340 m μ en un espectrofotómetro Beckman, modelo DU, provisto de un registrador automático y de un sistema para mantener la temperatura a 25°C.

Se define una unidad de ATP:hexosa fosfotransferasa como la cantidad de enzima capaz de fosforilar 1 μ mole de glucosa en 1 minuto (μ moles de NADPH₂ formados divididos por 2).

Los animales se sometían durante 4 a 6 días a una dieta hipergrasa, y luego se les suministraba hidratos de carbono, en diferentes dosis, por diversas vías y durante tiempos variables, según se indicará en cada experimento.

Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma Chemical Company (E.E.U.U.): ATP, EDTA, glicilglicina, y NADP. La glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se compró en C. F. Boehringer u. Söhne, GmbH (Alemania) y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa se preparó según Glock y McLean (8).

RESULTADOS

Influencia de la concentración de glucosa.

Con el objeto de estudiar el efecto del suministro de glucosa durante períodos cortos después de la alimentación con dieta hipergrasa, el azúcar fue administrado a diversas concentraciones por sonda gástrica. Los mayores aumentos de la actividad enzimática se observaron con las soluciones más concentradas, fueran estas de glucosa pura o de una mezcla de glucosa y maltosa-dextrina (Fig. 1). Se prefirió emplear la mezcla de glúcidos en los experimentos ulteriores, debido a que cuando se administró glucosa pura se presentaba frecuentemente diarrea. Los testigos que recibieron sólo agua por sonda mostraron un ligero incremento ($P < 0,01$) en la actividad fosfotransferásica con respecto a los animales sacrificados en el momento en que se suministró la glucosa o el agua. (Figura 1).

La Fig. 2 muestra 3 experimentos en los cuales se administraron dosis variables de glucosa por vía intraperitoneal. La dosis total fue dividida en 6 inyecciones (1 ml cada hora) en los experimentos 2 y 3, con el objeto de evitar la glucosuria que se observó frecuentemente cuando se suministraron dosis simples mayores (2 ml cada 2 horas), como ocurrió en el experimento 1. Los testigos re-

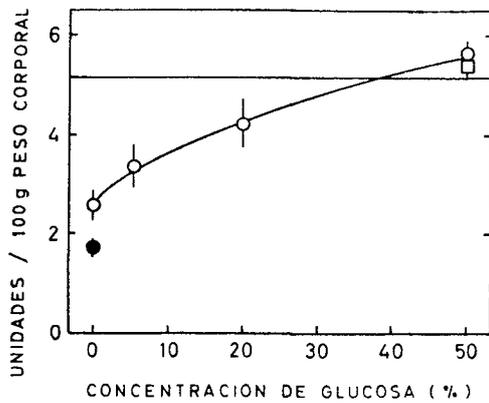


FIG. 1. Inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa hepática por administración oral de glucosa. Se dieron 3 ml de glucosa por sonda gástrica a ratas previamente alimentadas con dieta hipergrasa durante 6 días. Se dio muerte a los animales 6 horas más tarde. Cada punto corresponde al término medio de la actividad enzimática y las líneas verticales señalan una desviación típica. Los círculos vacíos (○) representan animales (3 por grupo) que recibieron glucosa. El círculo lleno (●) representa 15 testigos, muertos en el momento del suministro de glucosa al resto de los animales. El cuadrado (□) corresponde a 3 ratas que recibieron una solución de glucosa al 20% y maltosa-dextrina al 30%. La línea horizontal corresponde al promedio de valores en ratas alimentadas con dieta equilibrada.

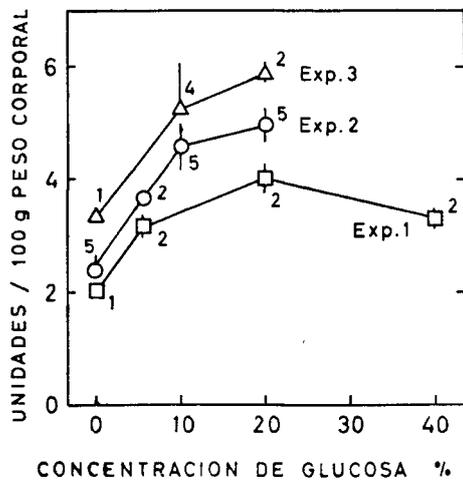


FIG. 2. Inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa por administración intraperitoneal de glucosa. La glucosa se administró a ratas alimentadas previamente con dieta hipergrasa durante 4 días. Cada experimento corresponde a un grupo de animales muertos en un mismo día. En el experimento 1 los animales recibieron 2 ml de las soluciones de glucosa cada dos horas y en los experimentos 2 y 3, 1 ml cada hora. Se dio muerte a los animales 6 horas después de la primera inyección. En el experimento 3 se emplearon ratas hembras. Cada punto es el promedio de varios animales (indicados por el número adyacente). Las líneas verticales señalan las desviaciones típicas, y en los grupos de 2 animales indican el margen.

cibieron volúmenes correspondientes de NaCl 0,15 M. La glucosa al 40% determinó un aumento de la actividad fosfotransferásica algo menor que el azúcar al 20%, lo que puede atribuirse en parte a la mayor glucosuria observada con la dosis más alta. La cantidad de líquido peritoneal acumulado por efecto osmótico, también fue mayor al emplear la concentración más elevada.

Estos experimentos demuestran que la recuperación de la ATP:hexosa fosfotransferasa fue similar cuando se dieron cantidades equivalentes de glucosa por vía oral o por inyección intraperitoneal. Esta conclusión es importante, pues ha permitido comparar el efecto de diversos monosacáridos, o sus derivados, en condiciones en que no interfiere la velocidad de absorción intestinal, y en que se evita la interconversión de algunos de ellos a nivel de la pared intestinal (9). Empleando la vía intraperitoneal se ha demostrado, en efecto, que la glucosa es más eficiente que la manosa como inductora de la ATP:hexosa fosfotransferasa y que ni la fructosa ni la galactosa ni la 2-desoxiglucosa determinan aumentos significativos con respecto a los testigos que reciben suero fisiológico (10).

Pareció de interés ensayar la vía endovenosa, por cuanto podía informar sobre la hipótesis de que una dosis relativamente pequeña de azúcar, capaz de provocar una elevación acentuada pero transitoria de la glicemia, pudiera determinar un aumento de cierta duración de la ATP:hexosa fosfotransferasa. Es decir permitiera resolver acerca de la posibilidad de que la glucosa actuara sólo como un "gatillo" de una serie de reacciones que dieran lugar a un aumento de la enzima hepática. Los ensayos preliminares, en los cuales se utilizaron ratas anestesiadas con uretano, fueron negativos, pues aunque se practicó una inyección intravenosa continua de glucosa no se observó un aumento de la actividad fosfotransferásica. Se atribuyó este fracaso a la anestesia y se cambió de procedimiento. Se inyectó en la vena de la cola sin anestesia o en una vena femoral disecada bajo ligera anestesia etérea, una solución de 1 ó 2 ml de glucosa al 40%. Una dosis única de 1 ó 2 ml ocasionó un aumento muy pequeño de la enzima al cabo de 3 ó 6 horas. En cambio, con dosis de 1 a 2 ml, repetidas cada 2 horas, hubo un aumento

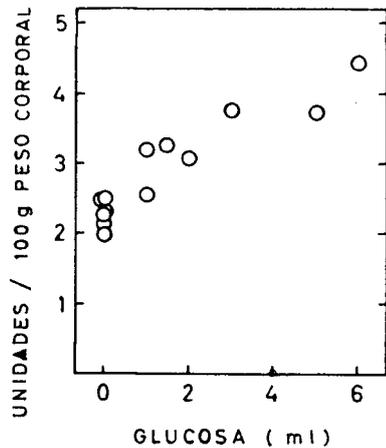


FIG. 3. Inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa por administración endovenosa de glucosa. Uno a 2 ml de glucosa al 40% fueron administrados en una sola dosis o en forma repetida cada dos horas en una vena. Las ratas fueron previamente alimentadas con dieta hipergrasa durante 6 días. Se dio muerte a los animales 6 horas después de la primera inyección. Cada abscisa representa la dosis total inyectada. Los testigos recibieron suero fisiológico en dosis semejantes a los animales experimentales, y se reúnen en un solo grupo, por no haberse encontrado diferencias entre ellos.

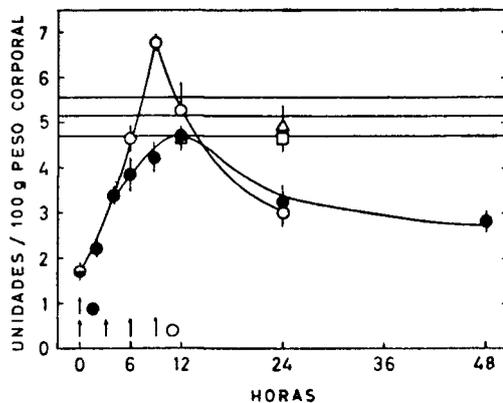


FIG. 4. Cinética de la inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa hepática por hidratos de carbono, en ratas previamente alimentadas con una dieta hipergrasa durante 6 días. Cada punto es el promedio de 5 a 15 animales y las líneas verticales señalan una desviación típica. Los círculos llenos (●) corresponden a ratas que recibieron una sola dosis y los círculos vacíos (○) a ratas que recibieron varias dosis (en el momento indicado por las flechas) de glucosa al 20% y maltosa-dextrina al 30%. El triángulo (△) indica animales a los que se les dio a beber glucosa al 50% *ad libitum* y los cuadrados (□) corresponden a ratas alimentadas con dieta hidrocarbonada *ad libitum* después de la dieta hipergrasa.

bien definido de la actividad fosfotransferásica. Sin embargo, este aumento fue inferior al que se observó con dosis similares suministradas por vías oral o intraperitoneal. La inyección endovenosa lenta de una sola dosis de glucosa provocó una hiperglicemia transitoria; mientras que la administración de dosis repetidas por esta vía dio lugar a una hiperglicemia notable en el momento de la muerte. Estos ensayos parecen indicar que es necesario que exista una hiperglicemia mantenida para obtener una mejor respuesta del hígado.

Influencia de la edad y del sexo.

Se estudió la respuesta de la ATP:hexosa fosfotransferasa a la administración de hidratos de carbono, en tres grupos de ratas de diferentes pesos, que habían estado previamente alimentadas con dieta hipergrasa durante 6 días. Se administró una solución de glucosa o de maltosa-dextrina por sonda gástrica y después de 4 horas se dio muerte a los animales. Los resultados se resumen en la Tabla I. Los testigos que no recibieron la solución glucídica tenían valores similares de ATP:hexosa-fosfotransferasa en el hígado. El aumento de la actividad enzimática después del hidrato de carbono apareció mayor en las ratas más pequeñas que en los grupos de ratas mayores, cuando la actividad se refiere a 100 g de peso corporal, como lo hacemos habitualmente. Sin embargo, si se expresan los resultados por gramo de hígado no hubo diferencia entre los diversos grupos. La discrepancia se explica por el hecho de que la razón entre el peso del hígado y el peso corporal es mayor en el animal joven que en el adulto (Tabla I). Es posible que los resultados no puedan ser comparados con exactitud, pues la respuesta depende de la cantidad de hidratos de carbono suministrada, y no existe seguridad que las raciones de los 3 grupos sean exactamente homologables.

Con respecto a la influencia del sexo del animal, en la Figura 2 se comparan los resultados obtenidos después de la administración de soluciones de glucosa por la vía intraperitoneal a ratas machos (experimento 2) y a ratas hembras (experi-

TABLA I

Influencia de la edad de los animales en la inducción de la ATP:hexosa fosfotransferasa hepática producida por el suministro de hidratos de carbono después de dieta hipergrasa

Condición experimental	Nº de ratas	Peso corporal g	Peso del hígado g	ATP: hexosa fosfotransferasa		Glicógeno hepático g/100 g
				unidades/g* hígado	unidades/100 g* peso corporal	
A	3	109	6,21	0,18 ± 0,03	1,01 ± 0,15	1,10
B	4	108	6,10	0,78 ± 0,09	4,53 ± 0,49 **	4,67
A	3	198	7,19	0,20 ± 0,01	0,70 ± 0,04	1,90
B	6	188	7,68	0,78 ± 0,06	3,19 ± 0,21	4,23
A	3	287	10,91	0,19 ± 0,02	0,73 ± 0,11	1,45
B	4	308	10,80	0,74 ± 0,06	2,65 ± 0,59	4,42

Las edades fueron aproximadamente de 50, 80 y 130 días para los grupos de ratas que pesaron 110, 200 y 300 g respectivamente. A: testigos que recibieron agua. B: animales que recibieron el hidrato de carbono; las ratas se sacrificaron 4 horas después de la administración por sonda gástrica de una solución de glucosa (20%) y maltosa-dextrina (30%).

* Media aritmética ± su error típico.

** Este valor difiere significativamente del correspondiente a las ratas de mayor peso en las mismas condiciones experimentales ($P < 0,05$).

mento 3) de la misma edad. La respuesta fue muy similar en ambos grupos frente a diferentes dosis del azúcar. No se investigó con más esmero la mayor actividad que parece existir en hembras alimentadas con dieta hipergrasa con respecto a los machos, en la misma condición experimental.

Cinética de las modificaciones de la ATP: hexosa fosfotransferasa.

En estos experimentos se administraron por sonda gástrica 3 ml de una mezcla de glucosa y maltosa-dextrina o se alimentaron los animales *ad libitum* con dieta hidrocarbonada exclusiva, después de haber estado durante 6 días en una dieta hipergrasa para disminuir la actividad fosfotransferásica. Se dio muerte a los animales en tiempos variables después de haber recibido una o varias dosis de hidratos de carbono. Se ha publicado una comunicación preliminar sobre estos resultados (5). El aumento de la actividad fosfotransferásica se inicia muy pronto después de administrada la primera dosis de glúcido, con una veloci-

dad de aumento aproximada de 0,55 unidades por 100 g de peso corporal por hora. La actividad máxima se observó a las 9 horas, momento en que se sobrepasaron los valores correspondientes a una dieta equilibrada. A pesar de que se continuó la administración de hidratos de carbono, la actividad descendió para alcanzar el nivel de la dieta equilibrada aproximadamente a las 12 horas. Cuando se suspendió el aporte de glúcidos, la actividad continuó descendiendo en forma relativamente lenta; entre las 12 y las 24 horas el descenso pudo calcularse en 0,19 unidades por hora. En otro experimento en que se indujo la enzima con una sola dosis de la solución de glucosa-dextrina, se alcanzó un máximo a las 12 horas, y luego se inició un descenso de la actividad a razón de 0,12 unidades por hora.

El descenso lento de la actividad también se ha observado al cambiar un régimen de hidratos de carbono por otro de dieta hipergrasa, caso en el cual el descenso correspondió aproximadamente a 0,06 a 0,07 unidades por hora (Tabla II). También se observa un descenso re-

TABLA II

*Cinética de la disminución en la actividad
ATP:hexosa fosfotransferasa por dieta
exenta de glúcidos*

Días en dieta hipergrasa	Nº de ratas	ATP:hexosa fosfotransferasa Unidades/100 g de peso corporal *
0	5	5,68 ± 0,57
1	4	4,20 ± 0,43
2	4	2,47 ± 0,15

(*) Media aritmética ± su error típico.

Todos los animales se alimentaron durante 6 días con dieta hidrocarbonada exclusiva. Algunos de ellos fueron transferidos posteriormente a la dieta hipergrasa.

lativamente lento de la actividad enzimática como consecuencia del ayuno (3, 11).

DISCUSIÓN

La ATP:hexosa fosfotransferasa es una enzima clave para la utilización de los hidratos de carbono, por cuanto cataliza la reacción que permite a la glucosa entrar a diversas vías metabólicas. Por esta razón, los estudios de las modificaciones de la actividad fosfotransferásica como resultado de cambios en la composición de la dieta, y de alteraciones endocrinas, tienen un interés muy especial. La utilización de glucosa en el animal entero o en el hígado aislado está claramente disminuida a consecuencia del ayuno así como de la falta de glucosa en la dieta (12-17). También es conocida la incapacidad del hígado para metabolizar en forma adecuada la glucosa en el animal diabético (18, 19). En todas estas condiciones experimentales se encuentra disminuida la actividad de la ATP:hexosa fosfotransferasa hepática (11, 20, 21, 22), por lo cual puede plantearse la hipótesis de que el cambio enzimático es el responsable del trastorno metabólico común. Una disminución de esta enzima se observa también en otros tejidos, como el riñón (23), el músculo (7) y la mucosa intestinal (24, 25) cuando el aporte glucídico de la dieta es deficiente.

Con respecto al mecanismo del aumento de la actividad de la ATP:hexosa fos-

fotransferasa como consecuencia del suministro de glucosa, existen algunas pruebas experimentales que permiten considerar que se trata de alteraciones en la cantidad de enzima y no de activación de una forma inactiva preexistente. La posibilidad de que existan inhibidores disociables en los extractos provenientes de animales alimentados con dieta hipergrasa o activadores disociables en los hígados de animales alimentados con hidratos de carbono puede eliminarse, porque la actividad enzimática es directamente proporcional a la cantidad de extracto empleada (no hay inhibición ni activación con las cantidades mayores) y, además, porque al mezclar alicuotas en proporciones variables de homogenizados de hígados de baja actividad (dieta hipergrasa) con homogenizados de alta actividad (dieta equilibrada), siempre la actividad resultante fue igual a la suma de las dos fracciones (10). A una conclusión similar se ha llegado en un estudio de mezclas de homogenizados obtenidos de ratas normales con los de ratas en ayunas (26). Por otra parte, el tratamiento de los animales con drogas que interfieren en la biosíntesis de proteínas impide la inducción de ATP:hexosa fosfotransferasa provocada por glucosa. Así ocurre, en efecto, con etionina (11, 21, 27, 28), fluorofenilalanina (21, 28), puromicina (5, 10, 11) y actinomicina (10, 21, 28). Estos hechos permiten aceptar como una hipótesis muy plausible que el aumento de la fosfotransferasa determinado por la glucosa sea un fenómeno semejante al de la inducción enzimática, tal como se ha definido en las bacterias. Un argumento más lo da la especificidad del inductor, por cuanto no son inductores efectivos la galactosa, la fructosa, y la 2-desoxiglucosa, a pesar que estas dos últimas son sustratos de la enzima (10). El aumento de la ATP:hexosa fosfotransferasa puede verificarse en ausencia de las glándulas suprarrenales (10), lo que sugiere que se trata de una inducción por sustrato. Es de interés señalar que los glucocorticoides son responsables de la inducción de diversas enzimas relacionadas con la utilización de aminoácidos (29).

En estos experimentos se ha medido la actividad fosforilante total de glucosa presente en el hígado. En forma indepen-

diente, Sols *et al.*, (20, 21, 28) y Walker (30, 31), han descrito dos enzimas capaces de fosforilar glucosa: una de K_m baja, que tendría propiedades semejantes a la hexoquinasa de otros tejidos animales (20), y otra de K_m alta y que existiría preferentemente en el hígado (11, 20). En nuestro laboratorio se han logrado separar y caracterizar parcialmente, cuatro fracciones enzimáticas capaces de fosforilar glucosa, las cuales se consideran isoenzimas de la ATP:D-hexosa 6-fosfo-transferasa (32). Una de ellas (D) que representa el $88,2 \pm 2,4\%$ de la actividad del hígado de ratas alimentadas con dieta equilibrada, se distingue por tener una constante de Michaelis elevada ($1,8 \pm 0,03 \times 10^{-2}$ M), y parece corresponder a la enzima de K_m alta de los otros investigadores. Las tres fracciones restantes (A, B, C) tienen K_m muy bajas y podrían corresponder en conjunto a la enzima de K_m baja de los otros autores. Lo interesante de estas isoenzimas es que, al parecer, sólo la fracción de K_m alta está sujeta a cambios grandes como consecuencia de modificaciones en la dieta (11, 20, 21, 28, 32, 33) o por falta de insulina (11, 20, 21, 28). Además, esta isoenzima D no existiría durante la vida fetal y haría su aparición sólo después del nacimiento (30, 34). De esta manera, los cambios observados por nosotros en la actividad total corresponden a modificaciones que operan desde valores basales más o menos constantes que corresponden a las isoenzimas que no se alteran grandemente. Los cambios porcentuales de la isoenzima D (K_m alta) serían mucho mayores que los expuestos si se toma en cuenta que con una dieta exenta de glúcidos se observaron valores muy pequeños de actividad de esta fracción (32). En consideración a que los métodos de determinación no permiten una seguridad con respecto a la distinción cuantitativa entre las diversas formas enzimáticas (32) y a que la isoenzima D representa un elevado porcentaje de la actividad total, parece justificado por el momento estudiar la inducción de ATP:hexosa fosfo-transferasa midiendo la actividad fosforilante total.

SUMMARY

Experiments were designed to determine the general characteristics of the in-

duction of ATP:D-hexose 6-phosphotransferase by the administration of carbohydrates to rats that were fed a high-fat carbohydrate-free diet for several days. When oral route was used, the administration of 3 ml of 20% glucose-30% maltose-dextrin solution every 3 to 4 hours by stomach tube was considered the best procedure. (Fig. 1 and 4). The intraperitoneal injection of 1 ml of 10 or 20% glucose every 6 hours gave similar results (Fig. 2) to those obtained by oral administration and is recommended when the interference of intestinal absorption must be avoided. The supply of glucose by intravenous route provoked an increase in enzyme activity (Fig. 3); however, this route is not convenient as a routine procedure. Younger rats exhibited higher responses than older ones (Table I) and sex did not have any influence (Fig. 2). Detailed kinetic studies showed a rapid increase of enzyme activity after carbohydrate administration, followed by a relatively slow decrease when the supply of carbohydrate was discontinued (Fig. 4 and Table II). The physiological implications of these findings are briefly discussed. Enzyme induction appears as a possible mechanism of the increase in ATP:hexose phosphotransferase activity provoked by glucose administration after carbohydrate depletion.

REFERENCIAS

- 1.—KNOX, W. E.; AUERBACH, V. H. y LIN, E. C. E.—*Physiol. Rev.* **36**:164, 1956.
- 2.—NIEMEYER, H. — *Acta Physiol. Latino-amer.* **12**:1739, 1962.
- 3.—NIEMEYER, H.; CLARK-TURRI, L.; GARCÉS, E. y VERGARA, F. E. — *Arch. Biochem. Biophys.* **98**:77, 1962.
- 4.—PÉREZ, N.; CLARK-TURRI, L.; RABAJILLE, E. y NIEMEYER, H. — *J. Biol. Chem.* (En prensa).
- 5.—NIEMEYER, H.; CLARK-TURRI, L. y RABAJILLE, E. — *Nature*, **198**:1096, 1963.
- 6.—NIEMEYER, H.; PÉREZ, N.; RADOJKOVIC, J. y URETA, T. — *Arch. Biochem. Biophys.* **96**:662, 1962.
- 7.—VAUGHAN, D. A.; HANONN, J. P. y VAUGHAN, L. N. — *Am. J. Physiol.* **199**:1041, 1960.
- 8.—GLOCK, G. E. y McLEAN, P. — *Biochem. J.* **55**:400, 1953.

- 9.—CRANE, R. K. — *Physiol. Rev.* **40**:789, 1960.
- 10.—NIEMEYER, H.; CLARK-TURRI, L.; PÉREZ, N. y RABAJILLE, E. — (En prensa).
- 11.—SHARMA, CH.; MANJESHWAR, R. y WEINHOUSE, S. — *J. Biol. Chem.* **238**:3840, 1963.
- 12.—CHAMBERS, W. H. — *Physiol. Rev.* **18**:248, 1938.
- 13.—PETERS, J. P. y VAN SLYKE, D. D. — *Quantitative clinical chemistry*, Williams and Wilkin's, Baltimore, 1946.
- 14.—LUNDBAECK, K. — *Yale J. Biol. and Med.* **20**:533, 1948.
- 15.—MASORO, E. J.; CHAIKOFF, I. L.; CHERNICK, S. S. y FELTS, J. M. — *J. Biol. Chem.* **185**:845, 1950.
- 16.—WYSHAK, G. H. y CHAIKOFF, I. L. — *J. Biol. Chem.* **200**:851, 1953.
- 17.—RENOLD, A. E.; TENG, C. T.; NESBETT, F. B. y HASTINGS, A. B. — *J. Biol. Chem.* **204**:533, 1953.
- 18.—CHERNICK, S. S. y CHAIKOFF, I. L. — *J. Biol. Chem.* **188**:389, 1951.
- 19.—ASHMORE, J.; HASTINGS, A. B. y NESBETT, F. B. — *Proc. Natl. Acad. Sc. U.S.* **40**:673, 1954.
- 20.—VIÑUELA, E.; SALAS, M. y SOLS, A. — *J. Biol. Chem.* **238**:PC1175, 1963.
- 21.—SALAS, M.; VIÑUELA, E. y SOLS, A. — *J. Biol. Chem.* **238**:3535, 1963.
- 22.—BLUMENTHAL, M. D.; ABRAHAM, S. y CHAIKOFF, I. L. — *Arch. Biochem. Biophys.* **104**:215, 1964.
- 23.—GARNER, R. J. y ROBERTS, R. — *Biochem. J.* **59**:224, 1959.
- 24.—LONG, C. — *Biochem. J.* **53**:7, 1953.
- 25.—TORRONTÉGUI, G. De. — *Biochim. et Biophys. Acta* **50**:164, 1961.
- 26.—BLUMENTHAL, M. D.; ABRAHAM, S. y CHAIKOFF, I. L. — *Arch. Biochem. Biophys.* **104**:225, 1964.
- 27.—NIEMEYER, H.; PÉREZ, N.; GARCÉS, E. y VERGARA, F. E. — *Biochim. Biophys. Acta* **62**:411, 1962.
- 28.—SOLS, A.; SALAS, M. y VIÑUELA, E. — *Adv. Enzyme Regulation*, **2**:177, 1964.
- 29.—KNOX, E. — *Trans. N. Y. Acad. Sci.* **25**:503, 1963.
- 30.—WALKER, D. G. — *Biochim. Biophys. Acta* **77**:209, 1963.
- 31.—WALKER, D. G. y RAO, S. — *Biochem. J.* **99**:360, 1964.
- 32.—GONZÁLEZ, C.; URETA, T.; SÁNCHEZ, R. y NIEMEYER, H. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **16**:347, 1964.
- 33.—OLIVER, I. T. y COOKE, S. J. — *Biochim. Biophys. Acta* **81**:402, 1964.
- 34.—BALLARD, F. J. y OLIVER, I. T. — *Biochem. J.* **90**:261, 1964.