

## **CONTENIDO DE ADN, ARN Y PROTEINAS EN DIVERSOS ORGANOS DE COBAYOS ORIUNDOS DE LA ALTURA**

**FERNANDO MAMANI A., WILDER DE LA CRUZ C. Y ELIZABETH CARRANZA A.**

Departamento de Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica U.N.M.S.M.

### **RESUMEN**

Se realizaron mediciones de ADN, ARN y proteínas en testículos, bazo, riñones, corazón, hígado, pulmones expresados en 100g de tejido húmedo y por órgano y el número de células por órgano en 19 cobayos machos adultos, 9 nativos de altura (Morococha, 4 540 m) y 10 nativos de nivel del mar (Lima, 150 m).

El peso corporal fue menor en cobayos de la altura pero sin diferencia significativa, sin embargo, el peso de la mayoría de órganos fueron mayores en los cobayos de altura.

Los cobayos de altura presentaron un contenido mayor de proteínas en riñones y pulmones, por 100 g de tejido húmedo y por órgano. El corazón mostró un mayor contenido de proteínas por órgano. El hígado mostró un menor contenido por 100 g de tejido, pero mayor contenido por órgano. Los testículos de cobayos de altura mostraron un mayor contenido de proteínas por 100 g. de tejido, pero un menor contenido por órgano.

El contenido de ADN fue mayor en los testículos, riñones, corazón y pulmones de cobayos de altura. El contenido de ARN estuvo aumentado en la mayoría de órganos de los cobayos de altura a excepción del bazo.

El número de células fue mayor en testículos, riñones, hígado y pulmones de cobayos de altura.

### **SUMMARY**

Measurement of DNA, RNA and proteins in guinea pig testes, spleen, kidney, heart, liver and lungs, expressed per 100 g wet tissue, per organ, and as number of cells per organ was performed in 9 male, adult guinea pigs native from high altitude (Morococha, 4540m) and in 10 male, adult guinea pigs native from sea level (Lima, 150 m).

Body weight was lower in high altitude guinea pigs, though not significantly; however the weight of most organs was higher in high altitude guinea pigs.

High altitude animals showed higher kidney and lung protein contents per 100 g wet tissue and per organ. Heart showed higher protein content per organ. Liver showed lower protein content per 100 g tissue, but lower content per organ.

DNA content was higher in high altitude guinea pig testes, kidneys, heart and lungs. RNA content was increased in most organs of high altitude guinea pigs, except the spleen.

Cell number was higher in high altitude guinea pig testes, kidneys, liver and lungs.

### **INTRODUCCION**

Es conocido que el tamaño, tanto corporal así como de los diversos órganos resulta de la interacción de factores genéticos y ambientales, que afectan durante el crecimiento y desarrollo, y que el conjunto del desarrollo químico del organismo es un proceso complejo, formado por la suma de los cambios en el peso y en la composición de todos sus tejidos y órganos, teniendo cada órgano su propio esquema de desarrollo químico y celular, que están relacionados con su función a diferentes edades. Todas las estructu-

ras, en el crecimiento y desarrollo de un organismo, se forman como resultado de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas.

El crecimiento y desarrollo en las grandes alturas refleja la interacción de los factores genéticos y el de menor presión parcial de oxígeno. Existen numerosos estudios que señalan la hipoxia como factor responsable del menor peso al nacer, del crecimiento lento y prolongado, de la talla pequeña del adulto y la mayor circunferencia torácica (4,6). Cambios fisiológicos y morfológicos como respuesta a la adaptación a la hipoxia han sido demostrados por muchos investigadores. Estudios morfométricos demuestran que el corazón es mas grande y más pesado en sujetos de la altura, como resultado de un proceso de hipertrofia del ventrículo derecho, hipertrofia del bulbo carotídeo y de los pulmones (3,24).

Es poco lo que se conoce del efecto de la hipoxia de las grandes alturas en relación al crecimiento y desarrollo a nivel tisular. Un organismo expuesto al estrés hipóxico durante su crecimiento fetal puede tener efectos permanentes sobre el crecimiento somático, por lo que un conocimiento de tal efecto sobre el contenido del ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (RNA) y proteínas de algunos órganos de animales oriundos de las grandes alturas, que fueron concebidos, nacidos y criados bajo el estímulo hipóxico es de gran importancia para comprender los patrones de crecimientos y desarrollo en la altura.

El propósito del presente trabajo ha sido cuantificar los ácidos nucleicos y proteínas de diversos órganos de cobayos oriundos de las grandes alturas (Morococha, 4540) y de cobayos de nivel del mar (Lima, 150 m.) con la finalidad de estimar las diferencias de estos parámetros entre ambas poblaciones.

## MATERIAL Y METODOS

**Material Biológico.-** La presente investigación se llevó a cabo en seis órganos: testículos, bazo, riñones, corazón, hígado y pulmones de 19 cobayos machos adultos, 9 de ellos nativos de altura (Morococha, 4 540m) y 10 del nivel del mar (Lima, 150 m.) Los animales fueron alimentados "ad libitum" con alfalfa, y 12 horas antes de ser sacrificados puestos en ayunas. Antes del sacrificio se les anestesió con éter dietílico, se les pesó, se les abrió la cavidad abdominal y se aislaron los órganos; éstos fueron lavados con ClNa helado, secados en papel de filtro, pesados, envueltos en papel de aluminio frío y congelados rápidamente en baño de hielo seco (-20°C) para su posterior análisis en los laboratorios del Centro de Investigación de Biología Andina.

Los órganos se homogeneizaron en agua destilada en proporción 1/10 (p/v). La homogeneización se llevó a cabo en baño de agua helada y el homogeneizado fue utilizado para la determinación del ADN usando el método de Setaro (20); del ARN por el método de extracción según Laga et al (11) y se cuantificó utilizando el método del orcinol (17), las proteínas se determinaron usando el método de Lowry et al (12). El número de células se calculó dividiendo los mg de ADN del órgano total entre 6.2 (Este factor representa la cantidad de DNA en una célula, expresado en picogramos en un núcleo diploide) (25).

**Análisis Estadístico.-** Para cada parámetro se aplicaron los métodos estadísticos descriptivos; las comparaciones fueron analizadas mediante la prueba "t" de Studenty las diferencias se consideraron significativas si  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

En la Tabla I se presentan los valores medios del peso corporal (g) y de seis diversos órganos (g) en ambos grupos de cobayos; si bien se observó un peso corporal ligeramente menor en los cobayos de la altura, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Fueron significativamente mayores en los cobayos de altura los valores medios de los pesos de riñones ( $p < 0,001$ ), hígado ( $p < 0,001$ ), corazón ( $p < 0,005$ ) y pulmones ( $p < 0,005$ ); en cambio el peso de los testículos fue menor en los animales de la altura ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencia significativa entre las medias del bazo de ambos grupos

**TABLA N° I**  
**PESO DE DIVERSO ORGANOS DE COBAYOS**  
( gramos )

	NIVEL DEL MAR	ALTURA	
	MEDIA $\pm$ DE	MEDIA $\pm$ DE	P
TOTAL	520,90 $\pm$ 37,75	485,89 $\pm$ 68,37	n.s.
TESTICULOS	2,25 $\pm$ 0,29	1,31 $\pm$ 0,25	<0,001
BAZO	0,86 $\pm$ 0,09	1,20 $\pm$ 0,52	n.s.
RIÑONES	3,85 $\pm$ 0,14	4,28 $\pm$ 0,18	<0,001
CORAZON	1,30 $\pm$ 0,19	1,60 $\pm$ 0,20	<0,005
HIGADO	13,40 $\pm$ 0,18	19,80 $\pm$ 3,82	<0,001
PULMONES	3,14 $\pm$ 0,24	4,02 $\pm$ 0,38	<0,005

En la Tabla II se presentan los valores medios del contenido de proteínas expresados por 100 g de tejido húmedo y por órgano. Cuando comparamos el contenido de proteínas por 100 de tejido húmedo, se observó que éste es significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) en los testículos y riñones de los cobayos de la altura; sin embargo en el caso del hígado, dicho contenido fue significativamente menor en los cobayos de la altura ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencia en el contenido de proteínas en el corazón y bazo.

**TABLA N° II**  
**CONTENIDO DE PROTEINAS EN DIVERSOS ORGANOS DE COBAYOS**

	NIVEL DEL MAR	ALTURA		NIVEL DEL MAR	ALTURA	
	(g/100 g de tejido húmedo)			(g/peso órgano)		
	MEDIA $\pm$ DE	MEDIA $\pm$ DE	P	MEDIA $\pm$ DE	MEDIA $\pm$ DE	P
TESTICULOS	8,95 $\pm$ 0,23	10,01 $\pm$ 0,45	<0,001	0,20 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,03	<0,001
BAZO	14,17 $\pm$ 0,19	13,91 $\pm$ 0,47	n.s.	0,12 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,08	n.s.
RIÑONES	13,26 $\pm$ 0,45	15,03 $\pm$ 0,83	<0,001	0,51 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,05	<0,001
CORAZON	14,00 $\pm$ 0,45	14,03 $\pm$ 0,69	n.s.	0,18 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,03	<0,005
HIGADO	17,57 $\pm$ 0,41	14,19 $\pm$ 0,80	<0,001	2,35 $\pm$ 0,30	2,80 $\pm$ 0,53	<0,05
PULMONES	11,53 $\pm$ 0,59	12,87 $\pm$ 0,54	<0,001	0,36 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,05	<0,001

Cuando el contenido de proteínas se expresó en relación al peso del órgano, se encontró un contenido mayor de proteínas en riñones ( $p < 0,001$ ), corazón ( $p < 0,005$ ), hígado ( $p < 0,05$ ) y pulmones ( $p < 0,001$ ) de los cobayos de altura. Los testículos mostraron un contenido de proteínas por órgano significativamente menor ( $p < 0,001$ ) en los animales de altura. No hubo diferencia en el contenido de proteínas del bazo de ambos grupos (Ver Tabla II).

La Tabla III muestra los valores medios del contenido de ADN (g), expresados por 100g de tejido húmedo y por órgano. Al comparar el contenido de ADN por 100 de tejido húmedo, se observó que éste es significativamente mayor en los testículos ( $p < 0,001$ ), riñones ( $p < 0,005$ ), corazón ( $p < 0,005$ ) y pulmones ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencia significativa entre las medias de ADN en el hígado y bazo.

TABLA N°III  
CONTENIDO DEL ADN EN DIVERSOS ORGANOS DE COBAYOS

	NIVEL DEL MAR	ALTURA		NIVEL DEL MAR	ALTURA	
	(g/100 g de tejido húmedo)			(mg/peso órgano)		
	MEDIA $\pm$ DE	MEDIA $\pm$ DE	p	MEDIA $\pm$ DE	MEDIA $\pm$ DE	p
TESTICULOS	0,15 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,05	<0,001	3,41 $\pm$ 0,36	4,11 $\pm$ 0,68	<0,01
BAZO	0,30 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,05	n.s.	2,54 $\pm$ 0,36	3,39 $\pm$ 1,23	n.s.
RIÑONES	0,23 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,04	<0,005	8,89 $\pm$ 0,79	12,01 $\pm$ 1,89	<0,001
CORAZON	0,21 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,02	<0,005	2,76 $\pm$ 0,46	3,88 $\pm$ 0,49	<0,001
HIGADO	0,13 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,02	n.s.	17,52 $\pm$ 4,08	27,98 $\pm$ 6,33	<0,001
PULMONES	0,52 $\pm$ 0,05	0,63 $\pm$ 0,07	<0,001	16,48 $\pm$ 1,98	25,50 $\pm$ 4,07	<0,001

Cuando el contenido de ADN se expresó en relación al peso del órgano, se encontró un contenido mayor de ADN en testículos ( $p < 0,01$ ), riñones ( $p < 0,001$ ), corazón ( $p < 0,001$ ), hígado ( $p < 0,001$ ) y pulmones ( $p < 0,001$ ) de los cobayos de altura. El bazo no mostró diferencia significativa en este parámetro. (Ver Tabla III)

La Tabla IV muestra los valores medios del contenido de ARN (mg), expresados tanto por 100g de tejido húmedo, como por órgano. Al comparar el contenido de ARN por 100 g de tejido húmedo, se observó que éste es significativamente mayor en los 6 órganos de los animales de altura.

Cuando el contenido de ARN se expresó en relación al peso del órgano, también se observó un contenido mayor de ARN en 5 órganos: riñones ( $p < 0,001$ ), corazón ( $p < 0,001$ ), hígado ( $p < 0,001$ ) y pulmones ( $p < 0,001$ ) de los cobayos de altura presentan un número mayor de células que sus similares del nivel del mar. El bazo no mostró diferencia significativa en el número de células.

**TABLA N°IV**  
**CONTENIDO DEL ARN EN DIVERSOS ORGANOS DE COBAYOS**

	NIVEL DEL MAR	ALTURA		NIVEL DEL MAR	ALTURA	
	(g/100 g de tejido húmedo)			(g/peso órgano)		
	MEDIA ± DE	MEDIA ± DE	p	MEDIA ± DE	MEDIA ± DE	p
TESTICULOS	0,31 ± 0,06	0,46 ± 0,04	<0,001	6,78 ± 0,99	5,99 ± 1,09	n.s.
BAZO	0,51 ± 0,04	0,61 ± 0,06	<0,001	4,38 ± 0,48	7,39 ± 3,33	<0,05
RIÑONES	0,40 ± 0,02	0,56 ± 0,07	<0,001	15,40 ± 0,95	23,85 ± 2,96	<0,001
CORAZON	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,02	<0,05	2,68 ± 0,48	3,60 ± 0,27	<0,001
HIGADO	0,43 ± 0,05	0,50 ± 0,02	<0,001	57,58 ± 12,46	99,62 ± 20,65	<0,001
PULMONES	0,30 ± 0,01	0,43 ± 0,04	<0,001	9,50 ± 0,68	17,26 ± 2,52	<0,001

El número de células por órgano expresado en millones se muestra en la Tabla V. Podemos apreciar que los testículos ( $p < 0,05$ ), riñones ( $p < 0,001$ ), corazón ( $p < 0,001$ ), hígado ( $p < 0,001$ ) y pulmones ( $p < 0,001$ ) de los cobayos de altura presentan un número mayor de células que sus similares del nivel del mar. El bazo no mostró diferencia significativa en el número de células.

**TABLA N° V**  
**NUMERO DE CELULAS DE DIVERSOS ORGANOS DE COBAYOS**  
**( Millones )**

	NIVEL DEL MAR	ALTURA	
	MEDIA ± DE	MEDIA ± DE	p
TESTICULOS	549,9 ± 57,4	663,93 ± 109,2	<0,05
BAZO	409,9 ± 57,4	545,94 ± 198,9	n.s.
RIÑONES	1 434,1 ± 126,7	1 951,5 ± 305,1	<0,001
CORAZON	445,6 ± 74,3	625,15 ± 78,16	<0,001
HIGADO	2 826,0 ± 658,4	4 513,5 ± 1 021,1	<0,001
PULMONES	2 658,1 ± 319,6	4 113,1 ± 656,1	<0,001

## DISCUSION

En el presente estudio, las determinaciones se realizaron en diversos órganos de los grupos de cobayos, uno nativo de altura, y otro del nivel del mar. Estos animales provenían de poblaciones perfectamente aclimatadas en sus respectiva altitudes.

Nuestro resultados no revelan diferencia significativa en relación al peso corporal, aun cuando se observó valores más bajos en los cobayos de altura. El efecto que pueda tener la hipoxia sobre el crecimiento y desarrollo ha sido estudiado por muchos investigadores. Algunos encuentran diferencia significativa en el peso de estos animales que viven crónicamente en ambientes hipóxicos, (5) En casos de exposición aguda, se ha encontrado menor peso corporal y crecimiento postnatal más lento (2,22); aunque estas

y los tejidos dispondrían de más aminoácidos para sintetizar proteínas (8). En cuanto a la menor concentración de proteínas en el hígado de cobayos de altura que contrasta con los otros órganos estudiados, Sanders (19) mostró que con relación a la síntesis de proteínas, el hígado es el órgano más perjudicado en los animales hipóxicos. Así, Oyala (15) ha encontrado concentraciones menores en hígado de cobayos nativos de altura, aunque sin diferencias significativas.

Con respecto a la determinación de ácidos nucleicos, los contenidos de ADN, ARN por 100g. de tejido y por órgano fueron más elevados en la mayoría de órganos en los cobayos de altura. Así, Sekhon (18) observó una mayor síntesis de ADN y ARN en el pulmón de ratas sometidas a hipoxia, debidas a la reducida disponibilidad de oxígeno. Pepelko (16) también encontró un incremento en el contenido de ADN en el ventrículo derecho del corazón en ratas expuestas a la altura. De otro lado, Meerson (13) señala que la activación de la síntesis de ADN en las células del miocardio durante la adaptación a la hipoxia, se efectúa en las mitocondrias y no en el núcleo de las células, habiendo entonces un incremento considerable en el número de partículas de ADN mitocondrial. Además, señala que en dicha adaptación a la hipoxia se observa una mayor actividad de síntesis de ARN en el núcleo del miocardio, más que en la mitocondria.

Nuestros resultados también muestran un mayor número de células en la mayoría de órganos de los cobayos de altura. Tappan (2) encontró que el contenido de ADN es más elevado en los tejidos de animales nativos de altura, y sugirió así un mayor número de células por unidad de peso. Al parecer, esto va de acuerdo con la mayor síntesis de ADN y mayor peso de los órganos observados en los animales de altura, ya que dicha síntesis sería seguida por una división celular, originando así una mayor proliferación celular.

## CONCLUSIONES

Los resultados observados presentaron evidencia de que:

1. El incremento en el peso y el contenido total de ADN, ARN, proteínas y número de células en riñones, corazón, hígado y pulmones de cobayos tienen relación con el estrés hipóxico crónico.
2. La hipoxia de altura produce variaciones en cuanto al peso y contenido en los testículos de los cobayos nativos; es así, que presentaron menor peso y cantidad de proteína y mayor contenido total de ADN y número total de células que los del nivel del mar. El contenido de ARN fue similar a los del nivel del mar.
3. El peso y el contenido total de ADN, ARN, proteínas y número total de células en el bazo de cobayos de altura fue similar a los del nivel del mar. Sólo el contenido de ARN fue mayor en cobayos de la altura.