

## ENZIMAS DEL CICLO DE LA UREA EN RATAS ALIMENTADAS CON MAIZ

*Percy Noriega Ponce,<sup>1</sup> María Bernal Osorio,<sup>2</sup>  
y Fredy Zegarra Aragón<sup>2</sup>*

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad  
Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.

### RESUMEN

Se determinaron las actividades de las cinco enzimas del ciclo de la urea, esto es, carbamil fosfato sinteasa, ornitina carbamil transferasa, argininosuccinato sinteasa, arginino succinato liasa y arginasa, en el hígado de ratas. Estas consumían dos tipos de dieta: dieta I, a base de maíz común entero molido, con un contenido de 8% de proteínas, y dieta II, constituida por una mezcla de almidón de maíz (maicena), "chuño" (papa deshidratada), azúcar y grasa, con 3% de proteína. Luego se compararon dichas actividades con las obtenidas de un grupo control de ratas, alimentadas con una dieta balanceada y cuyo contenido de proteínas era de 16%.

Las dietas fueron administradas a ratas recién destetadas, durante un período experimental de 90 días y las actividades enzimáticas se midieron a intervalos regulares en dicho lapso de tiempo.

Tanto los animales alimentados con la dieta I, como los alimentados con la dieta II, mostraron una baja actividad de las cinco enzimas del ciclo de

---

Manuscrito modificado recibido: 17-8-81.

- 1 Profesores Asociados de Bioquímica, Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.
- 2 Ayudante de Bioquímica del mismo Departamento.

la urea, pero el descenso de las actividades enzimáticas fue mayor y apareció más tempranamente en los animales alimentados con la dieta II. Las dos sintetasas del ciclo, esto es, carbamil fosfato sintéasa y argininosuccinato sintéasa, disminuyeron más precozmente y en mayor cuantía que las otras tres enzimas en los animales alimentados con los dos tipos de dieta.

## INTRODUCCION

Hay evidencia múltiple derivada de numerosos trabajos de investigación, indicativa de que la disminución de proteínas en la dieta produce una caída en la actividad de las enzimas hepáticas del ciclo de la urea (1-3).

Los trabajos realizados en cuanto a la actividad hepática de las enzimas del ciclo de la urea con dietas bajas en proteínas, sin embargo, han empleado en mayor grado proteínas que proporcionan niveles de aminoácidos esenciales relativamente adecuados cuando se ingieren en las cantidades requeridas para satisfacer las necesidades proteínicas de un organismo determinado. Así, la proteína más utilizada en dichos estudios ha sido la caseína. Teniendo esto en cuenta, se consideró interesante examinar los niveles de actividad de las enzimas hepáticas del ciclo de la urea, utilizando para el caso, otras proteínas o fuentes alimenticias que proporcionen una inadecuada ingesta de alguno o varios de los aminoácidos esenciales.

El examen de la actividad hepática de las enzimas del ciclo de la urea en las condiciones señaladas, también es de interés por otros motivos adicionales. Se ha señalado que la deficiencia de uno o varios aminoácidos esenciales en la dieta, o su desequilibrio en la dieta, produce un aumento de la urea sanguínea, el cual puede acompañarse de un incremento en la excreción urinaria de dicho metabolito (4-7). Bressani, Gómez-Brenes y Braham (5), encontraron que los niveles de urea sanguínea aumentan si se alimenta a perros con una dieta a base de gelatina, o con una dieta a base de zeína más triptofano (deficiente en lisina). Eggum (6), por su parte, indica que los niveles de urea en la sangre disminuyen a medida que el valor biológico de la proteína de la dieta aumenta. Por lo tanto, sería de importancia investigar si las alteraciones señaladas, se acompañan de alguna modificación en las actividades de las enzimas del ciclo de la urea, lo cual no ha sido notificado hasta el momento.

En vista de las consideraciones anteriores, el presente trabajo

se llevó a cabo con el objeto de investigar los niveles de actividad de las enzimas del ciclo de la urea, en ratas que consumen maíz, en dos condiciones experimentales diferentes, una fuente alimenticia que contenía principalmente una proteína de bajo valor biológico y que proporciona ingesta inadecuada de lisina y triptofano.

#### MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se efectuó en ratas albinas raza Wistar, de ambos sexos y de 30 días de nacidas, cuyo peso promedio era de 46 g. Estas fueron destetadas y se sometieron a una de las siguientes dietas: dieta I: constituida por maíz común peruano de la variedad conocida como cabanita, entero molido; dieta II: constituida por almidón de maíz (maicena) 500 g, "chuño" (papa deshidratada) 80 g, azúcar 125 g y grasa (manteca vegetal) 75 g. Los constituyentes señalados se mezclaron, agregándose luego agua en cantidad suficiente para hacer una masa blanda, la cual se coloca en el horno durante algunos minutos hasta su sequedad completa. De esta manera adquiere mayor consistencia y se evita su deterioro bacteriológico, siendo así administrada. Un tercer grupo de ratas, que sirvió como control, fue alimentado con una dieta a base de una preparación comercial balanceada (proporcionada por "Sociedad Industrial del Sur", Arequipa, Perú).

El contenido de proteínas de la dieta I fue de 8%, el de la dieta II, de 3%, y el de la dieta control, de 16%. La cantidad de proteínas de las dietas fue calculada mediante la determinación del contenido de N de dichas dietas aplicando el método de Kjeldahl.

Las dietas fueron administradas *ad libitum* y el consumo de alimento y peso corporal se registraron a intervalos regulares durante el tiempo de administración de las dietas.

Las enzimas del ciclo de la urea fueron determinadas en un homogenizado de hígado, el cual se preparó de la siguiente manera: luego de sacrificada la rata por decapitación, se dejó que perdiera un poco de sangre por algunos segundos, retirándose en seguida el hígado en su totalidad. Este se pesó, tomándose a continuación 0.5 g para su homogenización con agua bidestilada helada, la cual fue realizada de una manera estandarizada sobre hielo, con un homogenizador tipo Potter, durante un minuto. El volumen total del homogenizado fue de 10 ml.

Las enzimas cuya actividad ha sido medida son: carbamil fosfato sinteasa (EC~ 2.7.2.2), ornitina carbamil transferasa (EC-

2.1.3.3), argininosuccinato sinteasa (EC-6.3.4.5), argininosuccinato liasa (EC-4.3.2.1) y arginasa (EC-3.5.3.1). También se determinaron DNA y proteínas en dicho homogenizado.

Se sacrificó un total de 10 ratas inmediatamente después de ser destetadas, y las determinaciones a que se sometieron fueron consideradas como valores a tiempo cero (basal). Asimismo, se realizaron determinaciones enzimáticas a los 8, 15, 30, 60 y 90 días después de iniciadas las dietas. El número de ratas empleadas en cada tiempo y para las diferentes dietas, fue como se esquematiza a continuación:

	0 días	8 días	15 días	30 días	60 días	90 días
Dieta I	10	5	5	5	5	5
Dieta II	10	5	5	5	5	5
Control	10	5	5	5	5	5

Para la determinación de enzimas del ciclo de la urea se utilizaron los métodos de Schimke (8), para hígado de rata. Dichos métodos se basan en incubar a 37°C una alícuota determinada del homogenizado de hígado, con los sustratos y cofactores necesarios, en las condiciones adecuadas para cada enzima, de manera que los productos finales para las cinco enzimas resultan ser o citrulina o urea. Las determinaciones colorimétricas de citrulina o urea se hicieron siguiendo el método de Ratner (9), en el cual se utiliza diacetil monoxima para la determinación de citrulina y alfa isonitroso propanediona para la determinación de urea.

Debido a que las enzimas arginasa y argininosuccinato sinteasa pierden actividad algo rápidamente después de preparado el homogenizado (8), estas enzimas fueron las primeras en ser determinadas.

Las proteínas hepáticas se analizaron utilizando el método de Lowry (10). Para la determinación del DNA hepático, se utilizó el método de Giles y Myers (11), previo tratamiento del homogenizado hepático con el procedimiento de Fleck y Begg (12).

Según Schimke (8), las unidades de actividad enzimática se consideran como el número de micromoles de producto formado por hora, a 37°C, en las condiciones experimentales empleadas. Las actividades enzimáticas fueron expresadas fundamentalmente como unidades por mg de DNA hepático, desde que desmostraron, en nuestro laboratorio, que dicha forma de expresión de la actividad de las enzimas del ciclo de la urea es la más adecuada cuando

se ingiere una dieta a base de maíz, lo cual puede ampliarse a dietas bajas en proteínas (13).

La ornitina carbamil transferasa necesaria para determinar la actividad de carbamil fosfato sinteasa, fue preparada por nosotros de acuerdo con el método de Burnett y Cohen (14).

Los siguientes reactivos se obtuvieron de "Sigma Chemical Co.", St. Louis Mo., EUA: arginasa, argininosuccinato liasa tipo II, piruvato quinasa tipo III, ácido arginino succínico grado II sal de bario, carbamil fosfato sal de litio y ácido N-acetil L-glutámico. El reactivo 1-fenil-1,2 propanediona 2 oxima fue obtenido de "Eastman", Rochester, N. Y., EUA, y 2,3-butanediona 2 oxima de "Nutritional Biochemicals Corporation", Cleveland, Ohio, EUA. Otros reactivos de menor importancia los proporcionaron diversos laboratorios.

## RESULTADOS

Se observó que las ratas alimentadas con maíz (dieta I), mostraron una menor ganancia de peso corporal que las ratas control, hecho que se tomó como índice de una disminución en el crecimiento. Las ratas que ingirieron la preparación a base de maicena, "chuño", grasa y azúcar (dieta II), mostraron un peso estacionario a través de todo el período experimental. En otras palabras, no aumentaron de peso y, por lo tanto, la reducción en el crecimiento fue mucho más acentuada que en los animales alimentados con la dieta I.

Las ratas que consumieron la dieta II y en menor grado las alimentadas con la dieta I, en concordancia con lo señalado anteriormente, mostraron una gran disminución en el tamaño corporal, en relación a las ratas control. Ello se acompañó de una disminución en el tamaño del hígado. Adicionalmente, las ratas que recibieron las dietas I y II presentaron alteraciones dermatológicas, tales como piel lustrosa, reseca y descamada, y disminución y caída del pelo, alteraciones que fueron más notorias en las ratas sujetas a la dieta II. En ningún momento se observaron signos de edema entre las alteraciones ocasionadas por estos dos tipos de dieta.

En la Figura 1 se aprecian los niveles de actividad hepática de las cinco enzimas del ciclo de la urea, expresadas en unidades por mg de proteína (actividad específica), en las ratas control. Ese patrón de actividad es bastante similar al observado por otros

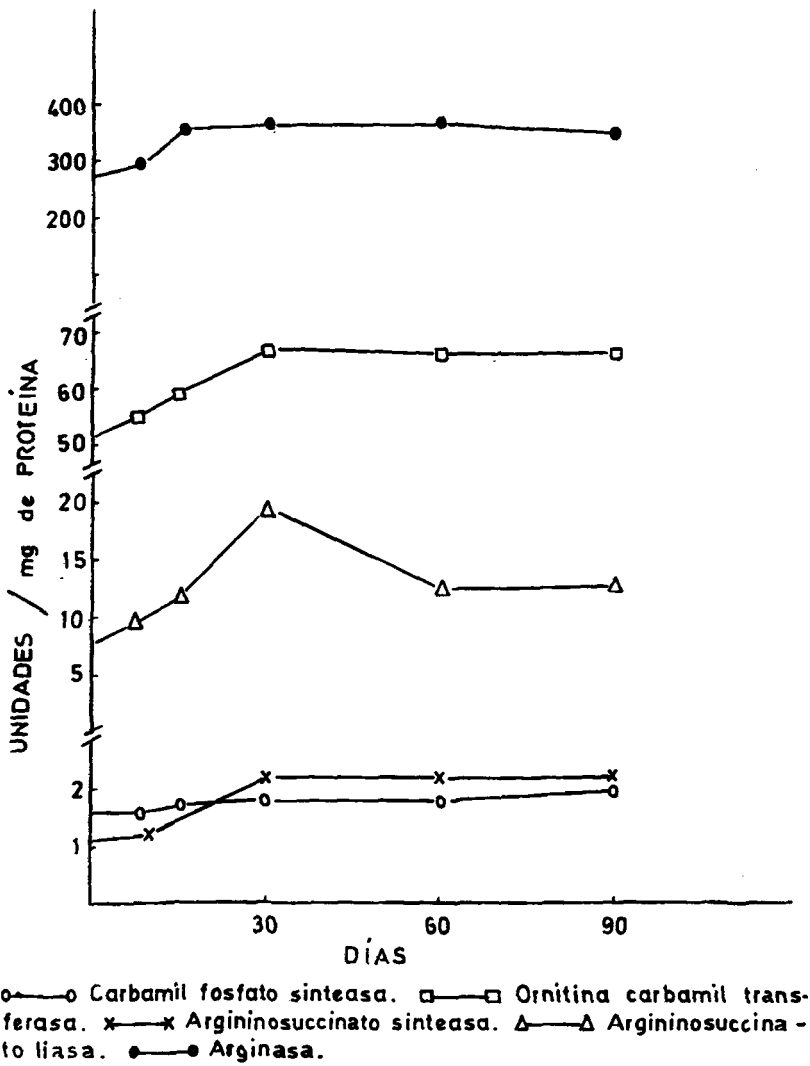


FIGURA 1

Actividad específica de las enzimas del ciclo de la urea en el hígado de ratas control, después del destete. Cada punto es el promedio de cinco animales, excepto los puntos basales (0 días), los cuales son el promedio de 10 animales

investigadores en ratas en crecimiento, alimentadas con dietas estándar, o fundamentalmente a base de caseína, utilizando los mismos métodos para las determinaciones enzimáticas (2, 15, 16).

En la Tabla 1 se muestra la actividad hepática expresada en unidades por mg de DNA, de las dos sintetasas del ciclo de la urea, esto es, carbamil fosfato sinteasa y argininosuccinato sinteasa. Las dos enzimas muestran bajas actividades en los animales alimentados con las dietas I y II, con respecto a los controles; la dieta II, sin embargo, produjo actividades más bajas que la dieta de maíz (dieta I). Con la dieta II las dos enzimas llegaron a tener valores más bajos que los niveles control, que estadísticamente son altamente significativos ( $P < 0.001$ ) a partir de los ocho días de ingestión de la dieta. En cambio la dieta I produjo valores más bajos que los niveles control, que son estadísticamente significativos ( $P < 0.01$ ) a partir de los 15 días de ingestión de la dieta, en lo referente a carbamil fosfato sinteasa, y a partir de los 30 días, para la argininosuccinato sinteasa.

La Tabla 2 muestra las actividades hepáticas de ornitina carbamil transferasa, argininosuccinato liasa y arginasa. Similarmente como para las dos sintetasas, la dieta II produjo actividades enzimáticas más bajas que los controles ( $P < 0.001$ ), para las tres enzimas, a partir de los ocho días de ingestión de la dieta. En cambio, para los animales que ingirieron maíz (dieta I), la diferencia estadística con respecto a los valores control fue significativa ( $P < 0.01$ ) a partir de los 30 días, para ornitina carbamil transferasa y argininosuccinato liasa, y desde los 60 días, para arginasa.

Al expresar la actividad enzimática como porcentaje del respectivo valor control (Figura 2), se aprecian observaciones adicionales interesantes. Así, para los animales que ingirieron maíz (dieta I), ocho días después de la ingestión de la dieta que la enzima carbamil fosfato sinteasa presenta una actividad de 89% del valor control, llegando a reducirse hasta el 49% a los 90 días. La argininosuccinato sinteasa, que era el 80% del valor control a los ocho días de dieta, disminuyó al 43% a los 90 días; la ornitina carbamil transferasa, de 97% del valor control a los ocho días de dieta, descendió a 64% a los 90 días; la argininosuccinato liasa pasó de 89% del valor control a los ocho días de dieta, hasta 47% a los 90 días, y la arginasa, que constituía 99% del valor control a los ocho días, llegó a 64% a los 90 días de ingestión de la dieta I. Es, pues, evidente que las enzimas carbamil fosfato sinteasa y argininosuccinato sinteasa disminuyeron más tempranamente y en mayor cuantía que las tres restantes.

TABLA 1

**ACTIVIDAD HEPÁTICA DE CARBAMIL FOSFATO SINTEASA Y  
ARGININOSUCCINATO SINTEASA EN RELACION AL TIEMPO  
TRANSCURRIDO DE CONSUMO DE LA DIETA, EN RATAS CONTROL  
Y EN ALIMENTADAS CON DIETAS BAJAS EN PROTEINAS**

Dieta	Días de dieta	Carbamil fosfato sinteasa Unidades/mg de DNA	Argininosuccinato sinteasa Unidades/mg de DNA
Control	0	250 ± 9*	166 ± 9
	8	282 ± 1	209 ± 17
	15	270 ± 14	342 ± 21
	30	275 ± 17	351 ± 31
	60	298 ± 16	377 ± 17
	90	344 ± 12	370 ± 12
Dieta I	8	251 ± 21	168 ± 4
	15	211 ± 18	284 ± 27
	30	153 ± 18	166 ± 13
	60	159 ± 8	162 ± 7
	90	170 ± 10	160 ± 5
Dieta II	8	110 ± 9	76 ± 8
	15	95 ± 6	129 ± 17
	30	79 ± 8	81 ± 4
	60	70 ± 1	71 ± 3
	90	68 ± 1	68 ± 1

\* Media ± error estándar.

Para los animales alimentados con la dieta II, la actividad de carbamil fosfato sinteasa fue de 390/o del valor control a los ocho días de ingestión de la dieta, disminuyendo hasta 200/o a los 90 días; la actividad de argininosuccinato sinteasa que era 360/o del valor control a los ocho días, se redujo a 180/o a los 90 días; la ornitina carbamil transferasa, de 610/o del valor control a los ocho días de dieta, llegó a ser 230/o a los 90 días; la argininosuccinato liasa, de 580/o del valor control a los ocho días, a 220/o a los 90

TABLA 2

**ACTIVIDAD HEPATICA DE ORNITINA CARBAMIL TRANSFERASA, ARGININOSUCCINATO LIASA Y ARGINASA EN RELACION AL TIEMPO TRANSCURRIDO DE CONSUMO DE LA DIETA, EN RATAS CONTROL Y EN ALIMENTADAS CON DIETAS BAJAS EN PROTEINAS**

Dieta	Días de dieta	Ornitina carbamil transferasa Unid./mg de DNA	Argininosuccinato liasa Unid./mg de DNA	Arginasa Unid./mg de DNA
Control	0	7,940 ± 319*	1,226 ± 66	43,413 ± 3,350
	8	9,728 ± 358	1,723 ± 65	52,157 ± 2,289
	15	9,310 ± 732	1,871 ± 115	55,333 ± 3,250
	30	10,505 ± 1,066	3,108 ± 325	55,905 ± 6,447
	60	11,224 ± 883	2,163 ± 36	62,052 ± 1,561
	90	11,257 ± 752	2,257 ± 100	57,796 ± 2,501
Dieta I	8	9,466 ± 465	1,541 ± 261	51,658 ± 3,596
	15	8,716 ± 862	1,820 ± 234	53,640 ± 7,494
	30	6,741 ± 460	2,171 ± 218	43,247 ± 7,612
	60	6,962 ± 409	1,074 ± 137	31,443 ± 2,740
	90	7,218 ± 242	1,062 ± 30	36,860 ± 1,595
Dieta II	8	5,902 ± 769	1,000 ± 64	35,617 ± 1,723
	15	4,569 ± 492	937 ± 90	33,814 ± 3,866
	30	3,929 ± 336	860 ± 60	26,542 ± 1,403
	60	2,987 ± 191	447 ± 34	17,616 ± 735
	90	2,553 ± 153	489 ± 21	13,526 ± 1,066

\* Media ± error estándar.

días; y para la arginasa, de 68<sup>o</sup>/o del valor control a los ocho días de dieta, cayó posteriormente hasta 23<sup>o</sup>/o a los 90 días de ingestión de la dieta II. En forma similar a la dieta I, las más tempranas y mayores reducciones se apreciaron en las actividades de las dos sinteasas del ciclo, es decir, carbamil fosfato sinteasa y argininosuccinato sinteasa.

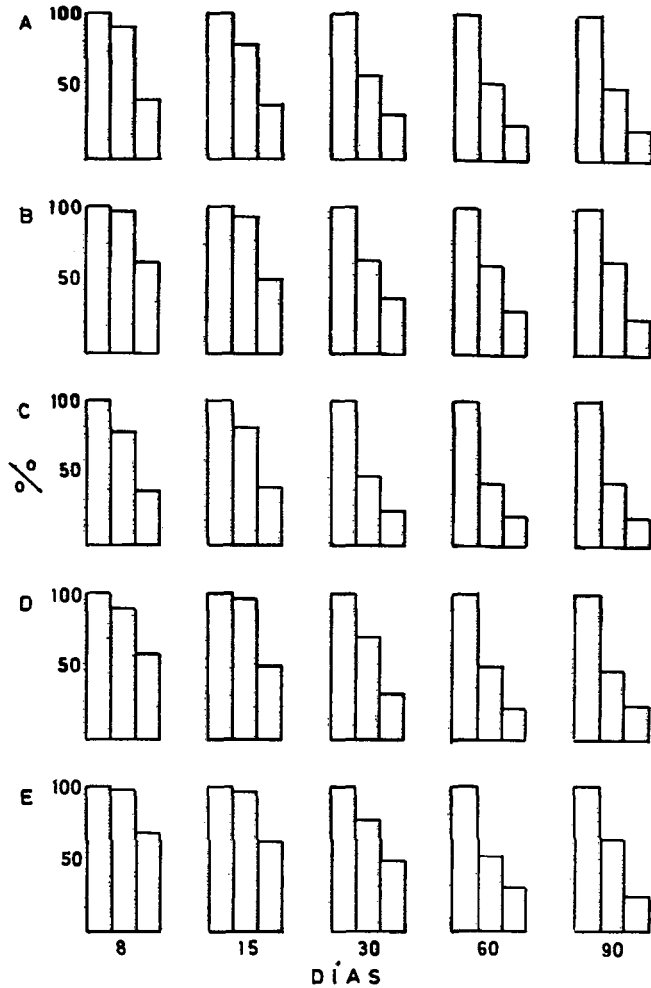


FIGURA 2

Cambios en la actividad hepática de las enzimas del ciclo de la urea producidos por las dietas, expresados en porcentaje. La actividad enzimática, en U por mg de DNA, de las ratas control, se toma como 100%. A. Carbamil fosfato sinteasa; B. Ornitina carbamil transferasa; C. Argininosuccinato sinteasa; D. Argininosuccinato liasa, y E. Arginasa. En cada conjunto de tres barras, la primera del lado izquierdo corresponde a los valores control, la del medio a la dieta I, y la tercera, a la dieta II

## DISCUSION

La disminución en la actividad de las enzimas hepáticas del ciclo de la urea producida por la ingestión de maíz (dieta I) y la dieta a base de maicena, "chuño", azúcar y grasa (dieta II), guarda buena concordancia con los hallazgos ya señalados para la ingestión de una dieta baja en proteínas; en otras palabras, se produce un descenso en la actividad de dichas enzimas en el hígado (1-3). Sin embargo, a diferencia de los hallazgos de Hutchinson y Labby (2), no revelan recuperación de los niveles de actividad enzimática después de largo tiempo de ingerir una dieta baja en proteínas.

Para explicar la disminución en la actividad de las enzimas del ciclo de la urea producida por las dietas I y II, debemos considerar los efectos producidos en el metabolismo proteínico por las dietas bajas en proteínas. Asimismo, cabe considerar los efectos producidos por la deficiencia de aminoácidos esenciales, concretamente, el menor aporte de lisina y triptofano de la dieta. Otros factores tales como vitaminas y minerales, deben jugar un rol muy secundario, ya que al agregar una mezcla de vitaminas hidro y liposolubles y sales minerales a las dietas utilizadas en este estudio (no se muestran los resultados), no se observó alteración alguna en los resultados que se comentan.

El menor aporte de proteínas de la dieta produce una serie de ajustes metabólicos que llevan a la adaptación del organismo para mantener la vida mientras se permanece en dicho estado. Así, si bien es cierto que con un bajo aporte proteínico en la dieta, o dietas exentas de proteínas, el organismo debe obtener los aminoácidos necesarios para el mantenimiento de las proteínas endógenas, fundamentalmente de la llamada reserva lábil de proteínas (17, 18). Por este motivo, debe degradar parte de sus proteínas, principalmente del hígado, músculo, piel, intestino y páncreas. Una de las primeras adaptaciones que se producen es la disminución del catabolismo proteínico, como que si el organismo tratara de ahorrar al máximo sus proteínas y degradar solamente las necesarias para su mantenimiento (19). Hay también una menor excreción de nitrógeno urinario y de urea (1, 5, 20).

Juntamente con los cambios anteriores se produce una disminución del RNA en los tejidos, más marcada en el hígado. Esta merma parece ser principalmente del RNA ribosomal y del RNA mensajero, a lo que se añade una serie de otros hallazgos que indican una menor síntesis de proteínas (21, 22).

Las alteraciones en cuestión pueden correlacionarse bien con la disminución en la actividad de las enzimas del ciclo de la urea, producida por las dietas I y II según se observó en el presente trabajo.

Como las dietas bajas en proteínas utilizadas en este estudio tenían que haber sido además deficientes principalmente en lisina y triptofano, habría que considerar también los efectos de las dietas que contienen proteínas carentes o bajas en uno o más aminoácidos esenciales, sobre el metabolismo proteínico. En este sentido ya hemos indicado que la deficiencia de uno o varios aminoácidos esenciales en la dieta, o el desequilibrio de aminoácidos esenciales en la misma, induce un aumento de la urea sanguínea, lo cual puede acompañarse de un aumento de su excreción en la orina (4-7). Puesto que la síntesis proteínica es dependiente de los aminoácidos aprovechables en un determinado momento y como también requiere concentraciones adecuadas de aminoácidos y la presencia simultánea de ellos (23), es factible pensar que al faltar uno o más aminoácidos esenciales, es imprescindible la degradación de proteínas endógenas que aporten los aminoácidos deficitarios para las necesidades de las células. Ello aplica especialmente a la síntesis proteínica, de manera que esa mayor degradación de proteínas se reflejaría en una mayor producción de urea. Esto podría estar acompañado de una mayor actividad de las enzimas del ciclo de la urea, lo cual no correlacionaría adecuadamente con la baja actividad enzimática producida por las dos dietas a base de maíz aquí utilizadas. Por lo tanto, la relación entre dietas deficientes en aminoácidos esenciales y la síntesis de urea, merece investigación adicional.

Debemos mencionar, sin embargo, que Sidransky *et al.* (24), encontraron niveles normales de arginasa en ratas alimentadas con una dieta carente de un aminoácido esencial. El mismo investigador señala que cuando se administra *ad libitum* una dieta carente o baja en un aminoácido esencial, lo que parece predominar son los efectos de la disminución de proteínas de la dieta, con los cambios en el metabolismo proteínico ya señalados. En cambio, se obtienen diferentes efectos si dichas dietas fuesen administradas mediante el procedimiento de alimentación forzada "force-feeding" (25).

Hay que añadir que se ha descrito un rol destacado del triptofano en la síntesis proteínica. La presencia de triptofano en las células es absolutamente necesaria para la síntesis proteínica, de manera que la administración de este aminoácido estimula la síntesis

proteínica a nivel transcripcional y post transcripcional (25, 26). Asimismo, la carencia o disminución de triptofano, podría producir una disminución de la síntesis proteínica, cuya consecuencia sería una merma en la degradación de las proteínas, que podría acompañarse de una baja actividad de las enzimas del ciclo de la urea, como lo encontramos en el presente trabajo.

Se ha señalado que debido a que la argininosuccinato sinteasa presenta la actividad más baja de las enzimas del ciclo de la urea, la tasa de funcionamiento de la síntesis de urea y su regulación dependería del control de la actividad de dicha enzima (27, 28). Pero también se ha postulado que la síntesis de urea puede ser regulada a nivel de la actividad de la carbamil fosfato sinteasa, implicándose al ácido N-acetil glutámico y a la ornitina como factores importantes en dicha regulación (29-31). El simultáneo descenso en la actividad de la carbamil fosfato sinteasa y argininosuccinato sinteasa que se manifiesta más tempranamente con las dietas I y II, enzimas que son más afectadas que las otras tres restantes, parece indicar que es a nivel de esas dos enzimas que deben buscarse los mecanismos de regulación del ciclo de la urea.

#### SUMMARY

##### UREA CYCLE ENZYMES IN RATS FED CORN

Activities of five urea cycle enzymes, carbamyl phosphate synthetase, ornithine transcarbamylase, argininosuccinate synthetase, argininosuccinase and arginase, were measured in liver of rats fed two types of diet: diet I: raw common corn and, diet II: made of a mixture of corn starch ("maicena"), "chuño" (dried potato), sugar and fat. The activities obtained were compared with those of a group of control rats fed a balanced diet with an adequate protein content.

Diets were administered after weaning, through an experimental period of 90 days, and the enzymatic activities were measured at regular intervals during this time.

Animals raised on diet I as well as those raised on diet II, showed low activity of the five urea cycle enzymes, but the decrease of enzymatic activity was more pronounced and appeared earlier in animals raised on diet II. Carbamyl phosphate synthetase and argininosuccinate synthetase, the two synthetases of this cycle, decreased earlier and in a greater degree than the other three enzymes in animals raised on these two types of diet.

## BIBLIOGRAFIA

1. Schimke, R. T. Differential effects of fasting and protein-free diets on levels of urea cycle enzymes in rat liver. *J. Biol. Chem.*, **237**: 1921-1924, 1962.
2. Hutchinson, J. H. & D. H. Labby. Studies of rat liver and kidney enzymes. II. Response to dietary protein deficiency and repletion chronic administration of ammonium acetate and L-glutamine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **14**: 302-309, 1964.
3. Shambough, G. E. III. Urea biosynthesis. II. Normal and abnormal regulation. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**: 126-133, 1978.
4. Kumta, V. S. & A. E. Harper. Amino acid balance and imbalance. VII. Effects of dietary additions of amino acids on food intake and blood urea concentration of rats fed low-protein diets containing fibrin. *J. Nutr.*, **74**: 139-147, 1961.
5. Bressani, R., R. Gómez-Brenes & J. E. Braham. Estudios, en perros, de las proteínas caseína, gelatina y zeína, y su efecto sobre el balance de nitrógeno y niveles de proteína y urea séricas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **21**: 15-29, 1971.
6. Eggum, B. O. The levels of blood amino acid and blood urea as indicators of protein quality. En: *Proteins in Human Nutrition*. J. W. G. Porter and B. A. Rolls (Eds.). New York, N. Y., Academic Press Inc., 1973, p. 317-328.
7. Braham, J. E., A. H. Rodríguez, M. A. Guzmán & R. Bressani. Efecto de la cantidad y la calidad de la proteína sobre los valores séricos de urea y amoníaco, y sobre la relación de aminoácidos no esenciales a esenciales. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **28**: 91-115, 1978.
8. Schimke, R. T. Adaptive characteristics of urea cycle enzymes in the rat. *J. Biol. Chem.*, **237**: 459-468, 1962.
9. Ratner, S. Enzymatic synthesis of arginine (condensing and splitting enzymes). En: *Methods in Enzymology*. Vol. 2. S. P. Colowick and O. Kaplan (Eds.). New York, N. Y., Academic Press Inc., 1955, p. 356-367.
10. Lowry, O. H., J. J. Rosebrough, A. L. Farr & R. J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275, 1951.
11. Giles, K. W. & A. Myers. An improved method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, **206**: 93, 1965.
12. Fleck, H. & D. Begg. The estimation of ribonucleic acid using ultraviolet absorption measurements. *Biochim. Biophys. Acta*, **108**: 333-339, 1965.
13. Noriega, P. P., M. O. Bernal & F. A. Zegarra. A comparison of different

- ways of expressing the liver urea cycle enzymatic activities in rats grown on corn. *Am. J. Clin. Nutr.* Sometido a publicación.
14. Burnett, G. H. & P. P. Cohen. Study of carbamyl phosphate ornithine transcarbamylase. *J. Biol. Chem.*, **229**: 337-344, 1957.
  15. Charbonneau, R., A. Roberge & L. Berlinguet. Variation with age of the enzymes of the urea cycle and aspartate transcarbamylase in rat liver. *Can. J. Biochem.*, **45**: 1427-1432, 1967.
  16. Raiha, N. C. R. & J. Suinkonen. Factors influencing the development of urea-synthesizing enzymes in rat liver. *Biochem. J.*, **107**: 793-797, 1968.
  17. Allison, J. B. & R. W. Wannemacher Jr. The concept and significance of labile and over-all protein reserves of the body. *Am. J. Clin. Nutr.*, **16**: 445-452, 1965.
  18. Felig, P. Amino acid metabolism in man. *Ann. Rev. Biochem.*, **44**: 933-955, 1975.
  19. Peng, Y. S., L. L. Meliza, M. G. Vavich & A. R. Kenmerer. Changes in food intake and nitrogen metabolism of rats while adapting to a low or high protein diet. *J. Nutr.*, **104**: 1008-1017, 1974.
  20. Yokogoshi, H., K. Hayase & A. Yoshida. Studies on carbamoyl-phosphate synthetase in livers of rats fed a protein free diet supplemented with methionine and threonine and injected with N-acetylglutamic acid. *J. Nutr.*, **108**: 1215-1221, 1978.
  21. Wannemacher, R. W. Jr., J. W. K. Cooper & M. B. Yatvin. The regulation of protein synthesis in the liver of rats. Mechanism of dietary amino acid control in the immature animal. *Biochem. J.*, **107**: 615-623, 1968.
  22. Enwonwu, C. O. & L. M. Srebnny. Experimental protein-calorie malnutrition in rats: Biochemical and ultrastructural studies. *Exp. Mol. Pathol.*, **12**: 332-353, 1970.
  23. Munro, H. N. Role of amino acid supply in regulating ribosome function. *Fed. Proc.*, **27**: 1231-1237, 1968.
  24. Sindransky, H., D. S. Wagle, M. Bongiorno & E. Verney. Chemical pathology of acute amino acid deficiencies: Studies on hepatic enzymes in rats force-fed a threonine-devoid diet. *J. Nutr.*, **100**: 678-684, 1970.
  25. Sidransky, H. Nutritional disturbances of protein metabolism in the liver. *Am. J. Pathol.*, **84**: 649-667, 1976.
  26. Oravec, M. & A. Korner. Stimulation of ribosomal and DNA like RNA synthesis by tryptophan. *Biochim. Biophys. Acta*, **247**: 404-407, 1971.
  27. Soberón, G. The physiological significance of tissue enzyme activities as affected by diets. *Bol. Estudios Méd. Biol. Méx.*, **27**: 19-49, 1971.
  28. Ratner, S. Enzymes of arginine and urea synthesis. En: *Advances in Enzymology*. A. Meister (Ed.). Vol. 39. New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1973, p. 1-90.

29. Shigesada, K. & M. Tatibana. Role of acetylglutamate in ureotelism. I. Occurrence and biosynthesis of acetylglutamate in mouse and rat tissues. **J. Biol. Chem.**, **246**: 5588-5595, 1971.
30. Saheki, T. & N. Katunuma. Analysis of regulatory factors for urea synthesis by isolated perfused rat liver. I. Urea synthesis with ammonia and glutamine as nitrogen sources. **J. Biochem.**, **77**: 659-669, 1975.
31. McGivan, J. D., N. M. Bradford & J. Mendes-Monrac. The regulation of carbamoyl phosphate synthetase activity in rat liver mitochondria. **Biochem. J.**, **154**: 415-421, 1976.