

FIGADO NO METABOLISMO DE PROTEINAS (*)

Prof. F. A. de MOURA CAMPOS

Encarado sob o aspecto chimico-biologico, ou analysado na sua feição physio-pathologica o assumpto desta palestra é demasiadamente longo. Dai a necessidade de cerceal-o. Resolvemos, pois, tecer algumas considerações sobre a função uropoietica e sobre a formação de um deposito de proteínas no figado. Lá focalizaremos, de preferencia, os trabalhos de KREBS e HENSELEIT (1), de um lado, em torno do cyclo da ureogenese e os de BOLLMAN, MANN e MAGATH (2), indicando os effeitos da extirpação dos rins e do figado sobre o metabolismo das proteínas. Aqui traremos a palavra do Departamento de Physiologia da nossa Faculdade.

FUNCCÃO UROPOIETICA

Se ROULE mostrou pela primeira vez a presença da uréa na urina, em 1773, dando a esse corpo um papel importante no metabolismo nitrogenado; se PRÉVOST e DUMAS, em 1823, registraram a sua presença no sangue, somente em 1882 a intervenção do figado na uropoiese ficou bem documentada com os trabalhos de SCHROEDER (3), que dosando a taxa de uréa do sangue da veia porta e a do sangue das supra-hepaticas e calculando a diferença poz em relevo a intervenção das cellulas hepaticas no metabolismo azotado. Os amino-acidos, que resultam da demolição do edificio proteico, pela intervenção dos fermentos proteolyticos do aparelho digestivo, chegam ao figado, onde podem soffrer um processo de desaminação. O grupo aminico, AzH_2 , forma a ammonea, que se liga a acidos organicos e mineraes, formados no proprio organismo, ou nelle introduzidos com a alimentação. Surgem os saes ammoniacaes. Quando estes provem de acidos organicos, fracos, de baixo coefficiente de dissociação ionica, como o lactico, benzoico, etc., podem contribuir para a formação da uréa. Pela lei da acção das massas o acido carbonico os modifica, transformando-os, por dupla deshydratação, em carbonato, carbamato de ammonio e uréa. Já outro tanto não succede quando se originam de acidos mineraes, fortes, de alto coefficiente de dissociação ionica. Sob a forma de saes ammoniacaes os rins os eliminam.

(*) Conferencia realizada no Departamento Scientifico do Centro Academico Oswaldo Cruz, em 16 de Setembro de 1939.

Na ammoniogenese, primeira etapa do catabolismo endogeno das proteinas, cooperam efficazmente os rins. Acreditam, mesmo, NASH e BENEDICT em uma intervenção notavel destes orgãos.

A formação da uréa opera-se, tambem, por outros mecanismos. São bem conhecidos os trabalhos de WOHLER, FEARON e MONTGOMERY, indicando que a oxydação da alanina e da glycina pelo peroxydo de hydrogenio, em meio alcalino, permite a produção de uréa e acido cyanico. A creatina, que é o acido methylguanidino-acetico, pode, por hydratação, produzir uréa e sarcosina (methyl-glycina). A arginina, operada pela arginase, fermento solúvel encontrado no figado, produz ornithina e uréa.

Acreditavam, porém, autores antigos que diariamente a taxa de uréa produzida pelos tres ultimos methodos citados não ultrapassava um decimo da somma elaborada na economia animal.

Considerando, todavia, os trabalhos de KREBS e HENSELEIT essa concepção tende a se modificar. Estes autores descreveram no tecido renal, e, depois no tecido hepatico, um fermento — a **desamino-oxydase**, capaz de agir por desaminação oxydativa sobre mono-peptidios, produzindo ammoniaco. Este, em presença de CO₂, póde agir sobre a ornithina, formada no desdobramento da arginina, produzindo citrulina, amino-acido com nucleo ureico, e agua. Uma nova mollecula de ammoniaco transforma por deshydratação a citrullina e arginina. Dahi um verdadeiro cyclo de ureogenese. E' interessante registrar o conjunto dessas reacções, que lembram um processo reversivel em tão delicado mecanismo biologico. Merecem reparo essas transformações, que se operam com gasto minimo de energia, economicamente, transformando em materia prima o que poderia ser considerado como residuo.

A formação de uréa traduz a actividade das cellulas hepaticas. Os rins trabalham no preparo do ammoniaco e na eliminação da uréa. Os trabalhos de BOLLMAN, MANN e MAGATH, da Mayo Foundation, são notaveis pelo criterio com que foram realizados e pelos profundos ensinamentos que trouxeram. Operando animaes de todos os grupos de vertebrados chegaram a conclusões interessantes. Conseguiram em muitos delles retardar a manifestação do choque hypoglycemico, pela administração systematica de sôro glycosado e, assim, estudaram com mais detalhes as mutações bioquímicas do sangue e da urina dos cães hepatectomizados e nephrectomizados. Mediram a resistencia dos animaes a varios typos de operação, como segue:

	Resistencia em horas
A — Extirpação do figado	6 — 24
B — Extirpação do figado e dos rins	5 — 12
C — Extirpação dos rins e 5 a 24 horas depois extirpação do figado	3 — 8

Vê-se que a extirpação do figado é incompatível com a vida, que a resistencia dos animaes decresce com a remoção dos rins e principalmente quando esta operação precede aquella de algumas horas.

Quando o figado é removido isoladamente nota-se queda progressiva da uréa no sangue e na urina e augmento dos amino-acidos no sangue. Bem comprehensíveis esses factos. Sendo o figado o organ formador da uréa, os rins os orgãos eliminadores e o sangue o meio intermediario, a extirpação daquelle e a conservação destes devem acarretar hypoazotemia e hypoazoturia progressivas com hyperaminoacidemia.

Sendo os rins removidos simultaneamente com o figado a aminoacidemia cresce mais rapida e intensamente e a azotemia se conserva constante. Aquelle facto decorre da exclusão do tecido renal, centro notavel de ammoneogenese. Este é o fruto da interrupção do mecanismo de eliminação da uréa. Por vezes ha ligeira redução da azotemia, explicavel pela eliminação de uréa, por intermedio da saliva e dos vomitos.

No terceiro typo de intervenção ha hyperazotemia no inicio e manutenção da uréa em taxa alta após extirpação do figado. A aminoacidemia cresce em duas oportunidades; quando os rins são extirpados e após a remoção do figado.

A analyse das variações biochimicas referidas indicam bem que os rins participam activamente na ammoniogenese e na eliminação da uréa. A formação desta, a partir de acidos aminados é, porém, função das callulas hepaticas.

DEPOSITOS DE PROTEINAS NO FIGADO

Este assumpto é magistralmente discutido por CANNON (4), em seu livro "The wisdom of the body". O organismo animal necessita de taxas relativamente pequenas de proteínas. Estas, todavia, devem ser fornecidas diariamente e de boa qualidade. Assim entendemos as que encerram em proporções recommendaveis os amino-acidos indispensaveis. Desconhecendo o mecanismo de synthese da lysina, tryptophano, cystina e tyrosina o organismo somente conta com o seu transporte pela alimentação.

Analysaremos em primeiro lugar, se as proteínas são depositadas normalmente no corpo. Veremos, depois, que no figado ellas podem ser guardadas sob uma forma labil. Finalmente cuidaremos do seu processo de mobilisação.

O primeiro quesito é respondido positivamente pelos argumentos de THOMAS (5) e de BOOTHBY (6).

Argumento de Thomas: Alimentou-se, de inicio, este pesquisador com uma dieta rica em proteínas. Adoptou, depois, durante 8 dias uma ração aprotéica, constituida exclusivamente

de hydratos de carbonio. Calculou o azoto total da urina diariamente. Notou a sua redução progressiva, até estabilisação em 2,2 grs. por dia. Esta seria a taxa minima, inevitavel, compativel com a manifestação dos actos vitaes. Dahi o calculo:

Taxa minima de N por dia	2,2	grs.
Taxa minima de N para 8 dias de ração aproteica	$2,2 \times 8 = 17,6$	"
Taxa de N total em 8 dias	66,0	"
Taxa de N proveniente de proteínas armaze- nadas sob a forma de reserva	$60,0 - 17,6 = 48,4$	"
Taxa de proteínas sob reserva utilizadas em 8 dias	$48,4 \times 6,25 = 302,580$	"
Taxa de proteínas de tecidos desintegrados em 8 dias	$17,6 \times 6,25 = 110,0$	"

Argumento de Boothby: — Forneceu-lhe uma experiencia feita com o jejuador Levanzin e teve como base a eliminação de creatinina pela urina. Esse corpo azotado parece traduzir pela sua taxa a desintegração dos tecidos para a manutenção do rythmo vital. E' independente da proporção de proteínas na dieta. Vejamos o raciocinio de BOOTHY:

Taxa de creatinina eliminada durante o jejum de 31 dias	10,7	grs.
Taxa de N correspondete á creatinina eliminada	62,0	"
Perda total de N	277,0	"
Taxa de N proveniente de proteínas sob forma de reserva	$277 - 62 = 215,0$	"
Taxa de proteínas sob reserva, utilizadas em 31 dias	$215 \times 6,25 = 1343,0$	"
Taxa de proteínas de tecidos desintegrados durante 31 dias	$62 \times 6,25 = 387,5$	"

Ao segundo quesito responderemos com as observações de AFANASSIEV, PFLÜGER, SEITZ, TICHMENEFF, LUCK, WHIPPLE e as nossas, em collaboração com CAVALCANTI e PAULA SANTOS.

Experiencia de Afanassiev — Em 1883 AFANASSIEV (7) já affirmava a existencia no figado de proteínas, sob forma labil, em deposito facilmente mobilisavel pelo organismo nos momentos opportunos. Alimentando cães co muma dieta rica em proteínas notára augmento da consistencia do figado e do volume das suas cellulas, nas quaes surgiam granulos, que reacções histo-chimicas revelaram de natureza proteica. Seria esta fracção diversa

da de natureza mais estavel, que participa na estrutura dos orgãos.

Experiencia de Pflúger — Submettendo animaes a uma dieta rica em proteínas, PFLÜGER (8) verificou a formação no figado de um deposito destas substancias, utilizando a potassa, a quente, na sua desintegração.

Experiencia de Seitz — Mais significativos foram os dados collidos por SEITZ (9). Este determinou a relação $\frac{N \text{ do figado}}{N \text{ do resto do corpo}}$ em animais inanidos e em outros alimentados com carne de vitella. Achou-a duplicada ou triplicada, elevação somente comprehensivel e possivel pelo augmento do nitrogenio hepatico. E foi o que succedeu.

Experiencia de Tichmeneff (10) — Ratos jovens foram deixados em jejum, durante 2 dias. Sacrificados foi procedida a dosagem de proteínas do figado. O outro lote foi bem alimentado com uma dieta rica em proteínas e sacrificado posteriormente. Nos animaes deste ultimo grupo a taxa de proteínas do figado augmentou de 53 a 78%.

Experiencia de Luck — LUCK (11) avaliou em ratos submettidos a dietas pobre ou rica em proteínas as taxas de substancias proteicas do figado, musculos esqueleticos, rim e intestino. As taxas do figado e do intestino oscillaram com os typos de ração. Conservaram-se mais ou menos constantes as dos musculos e rim.

Experiencia de Whipple e colaboradores (12) — No sangue as proteínas do plasma participam da sua estrutura. Não têm função alimentar. Cooperam na manutenção da pressão osmotica do sangue. Podem ser removidos em grande taxa, retirando-se sangue, suspendendo os elementos figurados em solução physiologica e injectando-os de novo. Foi assim, possivel reduzir, no cão, a taxa de proteínas do plasma de 6 a 2%. Em 24 horas, todavia, a sua restauração se realisava na proporção de 40%. O mesmo não succedia quando o animal era portador da fistula de ECK, que exclue o figado da circulação. De outro lado era lenta e difficil a restauração quando intoxicado o figado pelo phosphoro.

Experiencias pessoasas — Em uma primeira serie de experiencias verificámos, com CAVALCANTI (13), que ratos jovens, alimentados com uma dieta onde a fonte de proteina era a legumina da ervilha, na taxa de 4,9%, não cresciam. O theor de

proteínas do fígado reduzira-se, em média, a 15,23%, ao passo que em animais normais, da mesma idade era de 23,11%. A taxa de proteínas dos músculos esqueléticos fora de 21,60%, muito próxima à de 21,17% obtida nos mesmos tecidos para os animais testemunhas.

Em uma outra oportunidade, com CAVALCANTI e PAULA SANTOS (14) empregamos rações com 12,3 e 17,22% de legumina. Embora ainda sub-normais as curvas de crescimento os animais reagiram em condições melhores que os da primeira série. Os dados obtidos estão indicados no quadro abaixo:

DIETAS	Proteína do	Proteínas dos
	fígado	músculos
	grs. %	grs. %
Com 4,9% de legumina	15,23	21,60
Com 12,30 a 17,22% de legumina	19,33	23,79
Completa, com caseína, lactalbumina e gluteína	23,11	21,17

É de interesse notar que enquanto nos músculos esqueléticos as taxas de proteína foram muito próximas nas três condições experimentais, outro tanto não sucedeu com os dados obtidos para as proteínas do fígado. Aqui as taxas foram muito diversas, elevando-se progressivamente à medida que a dieta usada mais se aproximava da ração completa. Paralelamente, com o aumento das proteínas hepáticas foi observada uma melhoria na curva de crescimento. Dahi admittimos (15) a existência de uma relação estreita entre o desenvolvimento dos animais jovens e a formação de um depósito de proteínas no fígado. Esse depósito seria de proteínas labéis, facilmente mobilisáveis pelo organismo em condições de alimentação hypoazotada. Dietas pobres em proteínas não podem fornecer material proteico para um armazenamento hepático. Esta seria uma função secundária no tempo, sendo primária a de restauração das proteínas gastas no catabolismo diário. Em prol da hypothese que defendemos surgiu o seguinte facto, muito demonstrativo: o rato 882, alimentado com uma ração contendo 17,22 de legumina da ervilha e manifestando crescimento sub-normal, passou a receber cystina a 2%. Após um mez, com aumento nitido de peso, foi sacrificado, revellando o fígado 24,50% de proteínas. A deficiência da legumina, que é em cystina, segundo os estudos de THOMAS (16), OSBORNE e MENDEL (17) e OSBORNE e WEYL (18), foi compensada, a ponto de permittir o crescimento do rato e a formação de um optimo depósito de proteínas no fígado.

Ao terceiro quesito responderemos, parcialmente, com as observações de CANNON (19), de RIECKER e WINTERS (20). Aquelle mostrou que o sangue colhido em animais durante a emoção tem reduzido o seu tempo de coagulação. No mesmo sentido agiria a adrenalina injectada. Esse encurtamento do tempo de coagulação é devido, possivelmente, ao enriquecimento do sangue em

fibrinogenio, funcção que o figado pode desempenhar. RIECKER e WINTERS obtiveram um augmento de 36,3% na taxa de fibrina quando injectaram adrenalina. Ao mesmo tempo reduziu-se de 60% o tempo de coagulação.

BIBLIOGRAFIA

- 1) KREBS e HANSELEIT — Citados por CRISTOL, Précis de Chimie Biologique Médicale, 1935, p. 522.
- 2) BOLLMAN, MANN e MAGATH — Am. J. of. Physiol., 1926, 78, 259.
- 3) SCHROEDER — Citado por MITCHELL, H. H. e HAMILTON, T. S. The biochemistry of the aminoacids, 1929, 282.
- 4) CANNON, W. B. — The wisdom of the body, 1932, 122.
- 5) THOMAS — Arch. f. Physiol., 1910, 249.
- 6) BOOTHBY, SANDIFORD e SLOSSE — Ergebn d. Physiol., 1925, 24, 733.
- 7) AFANASSIEV — Pflüger's Arch., 1883, 30, 385.
- 8) PFLÜGER, E. — Arch. ges. Physiol., 1903, 96, 1.
- 9) SEITZ, W. — Arch. ges. Physiol., 1906, 111, 309.
- 10) TICHMENEFF — Bioch. Zeits. 1914, 59, 326.
- 11) LUCK, J. M. — J. of Biol. Chem., 1937, 115, 491.
- 12) WHIPPLE, SMITH e BELT — Am. J. of Physiol., 1920, 52, 72.
- 13) MOURA CAMPOS, F. A. e CAVALCANTI, T. A. A. — O Hospital, 1938, 13, n.º 2, 247.
- 14) MOURA CAMPOS, F. A. CAVALCANTI, T. A. A. e PAULA SANTOS, O. — Folia Clinica et Biol., 1938, n.º 3, 97.
- 15) MOURA CAMPOS, F. A. — Arch. Scienze Biologiche, 1938, 24, n.º 6, 500.
- 16) THOMAS, P. — Manuel de Biochimie, 1936.
- 17) MENDEL, L. B. — J. of. Am. Med. Assoc., 1915, 64, n.º 19, 1539.
- 18) OSBORNE, T. B. e WEYL, — Am. J. of Physiol., 1908, 22, 362.
- 19) CANNON, W. B. — Bodily changes in hunger pain and rage, 1924.
- 20) RIECKER e WINTERS — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 1931, 28, 671.