

**Efecto antagónico
entre la
hidrocortisona
y la
desoxipiridoxina
en el embrión
de pollo en
crecimiento.**

**JESUS GUZMAN G.* y
SYLVIA MENENDEZ CORRAL***

ENTRE LAS HORMONAS que producen efectos metabólicos o fisiológicos en los animales, se encuentran las producidas por las diferentes zonas de la corteza de las glándulas suprarrenales de los mamíferos.

Se han logrado aislar aproximadamente 30 esteroides cristalinos de la corteza suprarrenal, de los cuales sólo siete se consideran fisiológicamente activos; la corticosterona, desoxicorticosterona, cortisol, desoxicortisol, 11-dehidrocorticosterona, cortisona y aldosterona. Estos corticoides se han dividido de acuerdo con su estructura y función en 3 grupos:

1. Los "glucorticoides" u 11-oxisteroides, producidos por la zona fascicular de la corteza, que poseen un oxígeno cetónico en el C₁₁ y que intervienen principalmente en el metabolismo intermedio de carbohidratos, proteínas y lípidos.

2. Los "mineralocorticoides", reguladores del balance electrolítico y que son producidos en la zona glomerulosa de la corteza.

3. Por último algunos esteroides de efectos androgénicos que son producidos por la zona reticular de la corteza.

De todos ellos, la corticosterona, la cortisona y la aldosterona son los secretados en mayor cantidad a la circulación.

Estructuralmente las hormonas adrenocorticales son derivados de hidrocarburos de 21 átomos de carbono: el pregnano y el alopregnano con una cadena lateral cetólica ($-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{OH}$) en el C₁₇; éste es un grupo fuertemente reductor de actividad comparable a las de los azúcares cetónicos.

* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina.
Ciudad Universitaria. México 20, D. F.

Otro esteroide con actividad fisiológica, producido por las glándulas adrenales, es la progesterona, que estructuralmente sólo se diferencia de los corticoides en tener un grupo acetilo en lugar del cetólico en C₁₇, pero que a pesar de la similitud estructural es muy diferente de las hormonas adrenocorticales en sus efectos fisiológicos.

El papel esencial de la corteza adrenal en el mantenimiento de la vida fue dilucidado por Addison en 1855¹, quien por estudios clínicos puso de manifiesto la enfermedad que lleva su nombre, en la cual se presenta una destrucción bilateral de las glándulas suprarrenales, secundaria a la tuberculosis; los enfermos presentan astenia, disturbios gastrointestinales, fatigabilidad muscular, anorexia, hipotensión, hipoglucemia y alteraciones en la coloración de la piel.

En el lapso de 1920 a 1930 se estudiaron los efectos de la adrenalectomía en animales, encontrándose entre otros datos, que los perros sobreviven de 5 a 15 días a la mutilación y las ratas un poco más. Los animales adrenalectomizados presentan anorexia, fatigabilidad, hemoconcentración, hipoglucemia y gran susceptibilidad a cualquier agente como frío, calor, infecciones y sustancias tóxicas^{1, 2}, manifestaciones similares a las mencionadas para los addisonianos. La administración de extractos de corteza suprarrenal hace desaparecer estos síntomas, demostrándose más tarde que la administración de hormonas cristalinas en proporciones adecuadas tiene, en términos generales, el mismo efecto³.

Hasta la fecha no se ha podido aclarar el mecanismo bioquímico íntimo que explique las acciones fisiológicas de estas hormonas. Se han tratado de estudiar sus efectos en tres planos principales que son: a nivel del animal íntegro, a nivel de órganos y tejidos aislados o cultivos de células y a nivel de sistemas enzimáticos parcial o totalmente purificados.

Un dato de interés es que la administración prolongada de uno de estos esteroide produce glucosuria y un tipo diabético en la curva de tolerancia a la glucosa, pudiendo ocasionar en algunos casos diabetes mellitus permanente³.

La intervención de la corteza adrenal en el metabolismo de carbohidratos también se demuestra claramente por el hecho de que la adrenalectomía condiciona una mejoría en la diabetes experimental observándose como consecuencia un aumento en la sensibilidad a la insulina. Este menor requerimiento de insulina posterior a la adrenalectomía se percibe también en la marcada sensibilidad del sujeto adrenalectomizado

a dosis de insulina bien toleradas por individuos normales, así como en la hipoglucemia fatal que se desarrolla por el ayuno en individuos adrenalectomizados.

Uno de los efectos más marcados de la hidrocortisona y de otros glucocorticoides, naturales o sintéticos, es su acción sobre el glucógeno, hepático o muscular.

En el caso del hígado, los glucocorticoides condicionan un mayor depósito de glucógeno^{2, 3}, que se acompaña de un aumento en la excreción de nitrógeno², sugiriendo ésto que se debe cuando menos en gran parte, a un incremento en el proceso de gluconeogénesis a partir de aminoácidos, los cuales llegarían al hígado en mayor cantidad, debido ya sea a el efecto inhibitor sobre la síntesis de proteínas periféricas, o bien a un aumento en el catabolismo del material proteínico, también periférico, condicionados uno u otro por los glucocorticoides.

Se acepta en la actualidad que el residuo desaminado del aminoácido daría lugar a la formación de glucosa y glucógeno hepático y el grupo amino se eliminaría en forma de urea; ambos se encuentran aumentados bajo la administración de glucocorticoides.

Datos recientes de Rose y colaboradores⁴, en experimentos "in vivo", y de Piña y Laguna⁵, en experimentos "in vitro" indican que un efecto fundamental de los glucocorticoides en lo que se refiere a metabolismo de proteínas, es un aumento de catabolismo nitrogenado en los tejidos periféricos, al que se asocia una elevación del anabolismo proteínico en el hígado. En este sentido, también se conoce que el tratamiento con hidrocortisona produce en el animal íntegro, una disminución de proteínas musculares y otros tejidos de sostén^{6, 7}, junto con un aumento de proteína hepática^{6, 7, 8, 9}.

Sin embargo, la ingestión de proteína en la dieta es independiente de la acción catabólica sobre músculo^{7, 10}, mientras que la acción anabólica en hígado está en razón directa del aporte energético; además los datos de Piña¹¹, demuestran que al disminuir crónicamente la ingestión de proteína, la respuesta del hígado en la gluconeogénesis después de la administración de hidrocortisona es menor.

Esto hace pensar en una cierta independencia entre el efecto del catabolismo proteínico y el efecto gluconeogénico, lo que va de acuerdo con el hecho de que la insulina corrige las alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos pero no el efecto catabólico proteínico¹².

Por otra parte, diversos investigadores como Beaton¹³, Laguna y colaboradores¹⁴, Harding¹⁵, Rosen y colaboradores¹⁶, observaron que la actividad de la transaminasa glutámico-pirúvica hepática aumentaba bajo el tratamiento con glucocorticoides, resultando interesante que se pueda relacionar la actividad de esta enzima con el aumento en la gluconeogénesis.

Si esta hipótesis es correcta, la actividad gluconeogénica de los glucocorticoides disminuiría en ratas deficientes en piridoxina (vitamina B₆), debido a que el fosfato de piridoxal es la coenzima de dicha transaminasa. Se ha demostrado que ratas carentes de piridoxina presentan disminución en la actividad de la transaminasa glutámico-pirúvica¹³, y por otro lado Eisenstein¹⁷ observó una disminución en el depósito de glucógeno hepático bajo la administración de cortisona a ratas deficientes en piridoxina, en comparación con controles; además logró demostrar una relación directa entre actividad de transaminasa glutámico-pirúvica y cantidad de glucógeno.

Estas observaciones hicieron pensar en el estudio del efecto de un antimetabolito que bloqueara la acción gluconeogénica del glucocorticoide inhibiendo las enzimas dependientes del fosfato de piridoxal, de una manera semejante o igual al de la deficiencia en piridoxina, para lo cual se escogió la 2-desoxipiridoxina. Con este objeto el experimento se enfocó hacia las determinaciones de glucógeno hepático, ácido úrico y actividad de transaminasa glutámico-pirúvica en embriones de pollo en crecimiento tratados con hidrocortisona, en comparación con embriones tratados con hidrocortisona y desoxipiridoxina. Todas las constantes mencionadas son profundamente alteradas por tratamiento con el glucocorticoide.

Este trabajo indicaría, en el embrión de pollo, una relación entre el aumento del depósito de glucógeno condicionado por la hidrocortisona y la actividad de la transaminasa glutámico-pirúvica, como se ha considerado en mamíferos. Se supuso que la desoxipiridoxina bloquearía la acción de la coenzima de la transaminasa, disminuyendo así su actividad de transformación de aminoácidos a cetoácidos lo que podría a su vez disminuir el efecto gluconeogénico de la hidrocortisona.

Los experimentos se realizaron con embriones de pollo, en vista de que son sujetos experimentales de actividad metabólica alta, teniendo adicionalmente las ventajas de su fácil manejo y de que representan un sistema cerrado, independiente de factores dietéticos o ambientales y en los que sólo se realizan cambios gaseosos con el medio; además resultan

ser muy sensibles a la acción de glucocorticoides, produciéndose en ellos los efectos fundamentales de esta clase de esteroides.

Entre las acciones conocidas de los glucocorticoides en el embrión de pollo está la depresión en el crecimiento estudiado por Karnofsky¹⁸ y consignada posteriormente por otros autores como Cavallero¹⁹, Evans²⁰ y Sames²¹; también se observan alteraciones en la concentración de los iones sodio y potasio en los líquidos amnióticos y alantoideo^{14, 22}; retención de agua^{14, 19}; inhibición en la formación de ácidos nucleicos y proteína²⁰, lo cual puede relacionarse con el efecto depresor del crecimiento. También se han señalado alteraciones en el contenido de grasa y coenzima A del hígado²³. Otros de los efectos de los glucocorticoides en el embrión de pollo, muy relacionados con el presente estudio, son el aumento en el depósito del glucógeno hepático^{14, 24, 25}, y en la excreción de ácido úrico¹⁴.

MATERIAL Y MÉTODO

En este trabajo se emplearon huevos Leghorn embrionados con 10 días de incubación. Cada lote de embriones se dividió en 4 grupos los cuales se inyectaron por vía corioalantoidea con las siguientes sustancias:

Grupo 1. Hidrocortisona, a una dosis de 1 mg. por huevo, suspendida en 0.2 ml. de solución salina estéril al 0.9%.

Grupo 2. 2-Desoxipiridoxina a una dosis de 2 y 4 mg. por huevo, disuelta en 0.2 ml. de solución salina estéril a 0.9%.

Grupo 3. Hidrocortisona + desoxipiridoxina en las mismas dosis indicadas anteriormente y suspendidas en la misma cantidad de solución salina.

Grupo 4. Solución salina estéril al 0.9% que se inyectó a los huevos testigo a una dosis de 0.2 ml.

La inyección de los huevos se realizó según la siguiente técnica:

Observando el huevo por transiluminación se marcó un punto en la cámara de aire y otro en la zona no vascularizada un poco más abajo de ésta; a continuación se limpió externamente la zona pincelada con solución de yodo al 3.5%. En los puntos marcados se hizo un pequeño orificio con un punzón estéril, teniendo cuidado de no herir la membrana corioalantoidea. Las sustancias se inyectaron en el orificio inferior a la cámara de aire, cubriendo los dos orificios con parafina después de inyecta-

do el líquido. A continuación se colocaron los huevos en la incubadora a 37° C y una vez transcurrido el lapso fijado se sacrificaron los embriones y se llevaron a cabo las diferentes determinaciones.

Se determinó glucógeno en el hígado de los embriones. Acido úrico en el contenido total del huevo, y transaminasa glutámico-pirúvica en los hígados de los sujetos experimentales.

RESULTADOS

Glucógeno.

Como se indica en la Tabla I, la administración de hidrocortisona produjo una elevación franca de la cantidad de glucógeno hepático, pues en tres experimentos se obtuvieron valores del doble o más de los controles, resultando estadísticamente significativo el aumento en todos los casos, con valores de p de 0.01 o menores. En el primer experimento, la hidrocortisona elevó el glucógeno hepático desde 1123 mg. en los testigos, hasta 7767 mg.

La administración de desoxipiridoxina produjo resultados inesperados: la dosis baja (2 mg. por huevo), condicionó elevación en el glucógeno hepático; sin embargo a dosis mayores del antagonista (4 mg. por huevo), se observó una disminución en el carbohidrato del hígado. La dosis alta resultó demasiado tóxica para el embrión y sólo se empleó en los primeros experimentos. El aumento en los niveles de glucógeno hepático en los embriones tratados con 2 mg. de desoxipiridoxina fue del mismo orden que el condicionado por la hidrocortisona y la comparación con los testigos indica significado estadístico a niveles de p menores de 0.05 en un experimento y menores de 0.001 en los otros dos.

En cambio cuando se inyectó la desoxipiridoxina junto con el esteroide, el antimetabolito a dosis de 2 ó 4 mg. por huevo, fue capaz de bloquear la acción gluconeogénica del esteroide, ya que en algunos experimentos no se observó un aumento con respecto a los testigos y en otros el nivel de glucógeno en el hígado sólo llegó a 2617 mg. por 100 g. de glándula. Este mismo tipo de resultados, se observó en los otros experimentos. El total de embriones empleados en estas serie de experimentos fue de 400.

TABLA I

GLUCOGENO HEPATICO

(Los resultados se expresan en mg de glucógeno/100 g de tejido húmedo)

Exp.	TESTIGOS	HIDROCORTISONA	<i>p</i> vs. SS**	DESOXIPIRIDOXINA	<i>p</i> vs. SS
1	1123±501* (4)	7767±1415 (4)	<0.01	4019±793 (6)	<0.05
2	1078±167 (10)	2179±253 (9)	<0.005	2043±184 (11)	<0.001
3	1098±146 (14)	1897±251 (8)	<0.02	2114±97 (8)	<0.001

HIDROCORTISONA		
Exp.	DESOXIPIRIDOXINA	<i>p</i> vs. HC
1	2617±993 (5)	<0.01
2	1169±182 (7)	<0.01
3	1413±264 (7)	<0.25

* Promedio ± error estándar.

** Valores de *p* comparando contra los testigos (SS) o contra los embriones tratados con hidrocortisona (HC).

Los números entre paréntesis indican el número de determinaciones.

Acido Úrico.

La mayor parte del ácido úrico se encuentra en el líquido alantoideo, pero es difícil cosechar cuantitativamente ese líquido del huevo embriionado, por lo que se prefirió hacer su determinación en el contenido total del huevo para tener resultados más consistentes.

Ya que el ácido úrico no existe preformado en el huevo y es el propio embrión el que lo produce como el principal metabolito de excreción de su catabolismo nitrogenado, al expresar los valores de ácido úrico por un determinado peso de embrión se eliminan los efectos del mayor o menor crecimiento y se indica la actividad relativa del embrión para producir el metabolismo.

Para el estudio de los cambios en la producción de ácido úrico bajo la influencia de la hidrocortisona y la desoxipiridoxina se utilizaron aproximadamente 500 embriones. Las concentraciones de hidrocortisona y, o, desoxipiridoxina que se utilizaron fueron las mismas que para el estudio de los cambios de glucógeno hepático.

Los resultados fueron los esperados. La hidrocortisona aumentó la producción de ácido úrico por gramo de embrión en todos los casos; los niveles del metabolismo en los grupos experimentales fueron de 150% o mayores, tomando como 100% a los testigos y el tratamiento estadístico indicó valores de p menores de 0.001 (Tabla II).

Los resultados en la Tabla II también indican que la administración simultánea de desoxipiridoxina e hidrocortisona a los embriones redujo el aumento de ácido úrico condicionado por el esteroide, ya que la diferencia entre los resultados obtenidos al tratar los embriones con desoxipiridoxina e hidrocortisona o sólo con el esteroide es estadísticamente significativa a un nivel de p menor de 0.05. Sin embargo, este efecto no fue tan marcado como el que se observó en los experimentos sobre glucógeno, en cuyo caso la desoxipiridoxina prácticamente anuló la acción gluconeogénica de la hidrocortisona, reduciendo los valores de glucógeno hepático de los embriones tratados con el antimetabolito y el esteroide casi al nivel de los testigos.

TABLA II

ACIDO URICO.

(Los resultados se expresan en microgramos de ácido úrico/g de embrión)

Exp.	TESTIGOS	HIDROCORTISONA	p vs. SS**	DESOXIPIRIDOXINA
1	2240±84* (4)	3850±124 (4)	<0.001	2312±62 (6)
2	1823±82 (11)	3390±319 (8)	<0.001	1872±74 (9)
3	1996±49 (18)	3427±256 (16)	<0.001	2124±582 (18)

HIDROCORTISONA ⁺		
Exp.	DESOXIPIRIDOXINA	p vs. HC
1	2715±357 (4)	<0.05
2	2912±245 (9)	<0.05
3	2823±325 (16)	<0.2

* Promedio ± error estándar.

** Valores de p comparando contra los testigos (SS) o contra los embriones tratados con hidrocortisona (HC).

Los números entre paréntesis indican el número de determinaciones.

La desoxipiridoxina sola no fue capaz de aumentar la producción de ácido úrico, como se observa en la Tabla II, en la que puede notarse que las ligeras diferencias entre los valores de los grupos testigos y los experimentales no fueron estadísticamente significativas. Esto contrasta con la elevación del contenido de glucógeno hepático producido por la desoxipiridoxina sola que se comentó en párrafos anteriores.

Actividad de Transaminasa Glutámico Pirúvica.

Una de las acciones conocidas de los glucocorticoides es aumentar la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica en hígado, por lo que se consideró de interés estudiar el efecto de la desoxipiridoxina combinada con la hidrocortisona sobre esta actividad enzimática, ya que la desoxipiridoxina es un antagonista del fosfato de piridoxal, coenzima de la transaminasa mencionada. Sin embargo, como se puede ver en la Tabla III, los resultados obtenidos en este estudio no indicaron ningún aumento de esta actividad enzimática en ninguno de los grupos estudiados en tres experimentos en los que se emplearon aproximadamente 400 huevos

TABLA III

ACTIVIDAD DE TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA HEPATICA

(Los resultados se expresan en mcg de ácido glutámico/1 hora de incubación/50 mg de tejido húmedo)

Exp.	TESTIGOS	HIDROCORTISONA	DESOXIPIRIDOXINA
1	910 ± 151* (7)	595 ± 114 (7)	922 ± 154 (7)
2	746 ± 146 (6)	926 ± 173 (6)	709 ± 178 (6)
3	596 ± 138 (7)	977 ± 102 (8)	870 ± 54 (8)

HIDROCORTISONA - Exp. DESOXIPIRIDOXINA	
1	566 ± 90 (6)
2	1113 ± 111 (5)
3	1021 ± 38 (7)

* Promedio ± error estándar.

Los números entre paréntesis indican el número de determinaciones.

TABLA IV

CRECIMIENTO DE EMBRION

(Los resultados se expresan en gramos)

Exp.	TESTIGOS	HIDROCORTISONA	DESOXIPYRIDOXINA
1	9.56 ± 0.19* (4)	7.83 ± 0.18 (4)	8.78 ± 0.37 (6)
2	8.68 ± 0.30 (11)	6.02 ± 0.67 (8)	8.13 ± 0.75 (9)
3	9.29 ± 0.21 (18)	6.80 ± 0.17 (17)	8.86 ± 0.21 (19)

HIDROCORTISONA -
Exp. DESOXIPYRIDOXINA

1	6.66 ± 0.22 (4)
2	6.75 ± 0.30 (9)
3	7.35 ± 0.22 (16)

* Promedio ± error estándar.

Los números entre paréntesis indican el número de determinaciones.

embrionados. Como se discutirá más adelante, probablemente la razón de la falla de la hidrocortisona para producir un aumento en la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica sea debido a que la inducción de actividades enzimáticas es difícil de lograr en sujetos embrionarios.

Peso de Embrión.

Uno de los efectos más notables de la hidrocortisona sobre el embrión de pollo es la inhibición parcial del crecimiento que se ha consignado por numerosos autores. Este efecto se observa con varios glucocorticoides, ya sea sintéticos o naturales; sin embargo, no es específico de este tipo de esteroides.

Se consideró interesante investigar si la desoxipiridoxina es o no capaz de bloquear el efecto inhibitorio del crecimiento producido por la hidrocortisona. El diseño experimental fue el mismo que para las determinaciones de ácido úrico y glucógeno. Se confirmaron en todos los

casos los datos consignados en la literatura sobre la inhibición del crecimiento por la hidrocortisona. Además se observó que la desoxipiridoxina por sí sola también es capaz de disminuir el crecimiento como se puede observar en la Tabla IV; sin embargo, no lo hace en una forma tan marcada como la hidrocortisona, que produce una inhibición de un 60 a 70%. La desoxipiridoxina tiene cualitativamente la misma acción pero en grado mucho menor.

Aunque la desoxipiridoxina no logró una completa reversibilidad de la acción de la hidrocortisona sobre el crecimiento en todos los experimentos, es interesante el hecho de que en dos de tres ocasiones el peso de los embriones con la combinación de desoxipiridoxina mas hidrocortisona fue mayor que el de los embriones con el esteroide solo. Estos datos sugieren que en este aspecto, los dos compuestos también presentan una acción antagónica, pues a pesar de que aisladamente inhibieron el crecimiento, su acción no fue aditiva, por el contrario se antagonizaron parcialmente.

DISCUSIÓN

Uno de los efectos más claros que produce la administración de cualquier glucocorticoide a diversos sujetos experimentales, es la elevación de la cantidad de glucógeno hepático. Se considera que este aumento se debe a una mayor actividad en los procesos de gluconeogénesis a partir de aminoácidos. Pese a que el efecto gluconeogénico de los glucocorticoides es característico, no se sabe si su acción es primaria o es consecuencia de otras alteraciones bioquímicas condicionadas por este grupo de esteroides.

La mayor actividad del proceso de gluconogénesis en hígado siempre se acompaña de un aumento en la excreción de los metabolitos finales del catabolismo nitrogenado: urea en los mamíferos y ácido úrico desde la segunda mitad de desarrollo embrionario de las aves hasta el fin de su vida fuera del huevo.

También se observan, después de la administración de glucocorticoides, alteraciones en la cantidad de aminoácidos libres en circulación³⁰, así como un catabolismo proteínico exagerado en los tejidos periféricos, principalmente en la masa muscular, la cual disminuye^{6, 7}, lo que puede explicar el menor crecimiento o pérdida de peso en sujetos tratados con glucocorticoides. Sin embargo, algunos autores consideran que el efecto de

estos esteroides es más bien antianabólico que catabólico, es decir que hay una disminución en la síntesis de proteínas periféricas más que un aumento en su degradación. Sea cualquiera de estos dos mecanismos el que opere, el resultado neto es que existe una mayor cantidad de aminoácidos en disponibilidad para otros caminos metabólicos distintos de la síntesis de proteínas periféricas.

El exceso de aminoácidos procedentes de la periferia llegaría al hígado donde se metabolizaría, convirtiéndose su grupo amino en el producto nitrogenado de excreción y su cadena hidrocarbonada en glucógeno, procesos ambos que ocurren normalmente pero que se encontrarían exacerbados por la acción del glucocorticoide.

Se desconoce si la acción primaria de los glucocorticoides es en el músculo o en el hígado; a favor de la primera consideración está la mayor actividad en el músculo de enzimas relacionadas con el catabolismo proteínico condicionado por la administración de hidrocortisona⁴ y el aumento de actividad de la dipeptidasa muscular de la glicilglicina "in vitro", condicionado por este mismo esteroide, así como la menor incorporación de aminoácidos en material muscular^{31, 32}. Sin embargo, el hecho de que los glucocorticoides aumenten el anabolismo proteínico en hígado^{8, 9}, y los hallazgos de Glenn³³, de que la hidrocortisona aumenta la incorporación de una amplia variedad de sustratos marcados al glucógeno hepático, sugieren una independencia entre el efecto catabólico en tejidos extrahepáticos y la acción de estos esteroides en el hígado. Esto estaría de acuerdo con resultados obtenidos por otros autores, por ejemplo la independencia entre la dieta y la degradación de proteína en la masa muscular^{7, 10} contrastando con la relación entre la energía dietaria y la acción anabólica en hígado.

Por otro lado, los glucocorticoides son capaces de aumentar la actividad de una serie de sistemas enzimáticos íntimamente relacionados con el metabolismo nitrogenado como son: deshidrogenasa glutámica³⁰, transaminasa glutámico-pirúvica^{13, 14, 15, 16} así como otras transaminasas^{31, 32}, triptofano pirrolasa³³, etc.

De estas enzimas tienen especial importancia en el estudio del mecanismo de acción de los glucocorticoides aquellas que catalizan la transformación de aminoácidos en cetoácidos y resulta de mucho interés la observación de Engel^{3, 4}, quien demostró un aumento de actividad de la deshidrogenasa glutámica *crystalina* por tratamiento "in vitro" con hidrocortisona *pura* a concentraciones del esteroide dentro de los límites

considerados "fisiológicos". La importancia de este hallazgo estriba en el hecho de que la desaminación de la mayor parte de los aminoácidos puede explicarse por el mecanismo de transdesaminación u otros conectados a la deshidrogenasa glutámica.

El aumento de la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica en hígado, condicionado por una serie de glucocorticoides, se ha relacionado con la elevación de los procesos de gluconeogénesis, no únicamente desde el punto de vista especulativo, sino que ha recibido refuerzo experimental por los trabajos de Rosen y su grupo¹⁶, quienes demostraron que esta enzima aumenta en diversos procesos que tienen como denominador común el incremento de la gluconeogénesis, y por el grupo de Eisenstein, quienes han mostrado una estrecha relación entre la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica y el depósito de glucógeno hepático en animales tratados con hidrocortisona¹⁷.

La estrecha relación entre la actividad de la transaminasa glutámico-pirúvica, que tiene fosfato de piridoxal como cofactor, y algunos efectos de los glucocorticoides, hizo pensar en que un antagonista de la coenzima, la 2-desoxipiridoxina, administrada junto con glucocorticoides podría bloquear algunas de las acciones del esteroide, y ésto se planteó como hipótesis de trabajo.

De los datos obtenidos en el trabajo, se pueden hacer varias observaciones: la desoxipiridoxina fue capaz de inhibir los efectos propios de la hidrocortisona: la elevación del glucógeno hepático así como el exceso de producción de ácido úrico, que es el principal producto de excreción del metabolismo nitrogenado en el embrión de pollo. En algunos de los experimentos uno de los efectos más notables de la hidrocortisona, es decir el de la inhibición del crecimiento se bloqueó parcialmente. Estos datos señalan que existe un antagonismo entre los dos compuestos, sin que pueda decirse si es sobre uno o varios pasos metabólicos.

La disminución en el depósito de glucógeno hepático, junto con la menor excreción del metabolito nitrogenado final podría indicar que los embriones tratados con hidrocortisona más desoxipiridoxina tendrían una menor cantidad de aminoácidos en disponibilidad en el hígado, comparados con aquellos en que se administró solamente el esteroide. Esto estaría acorde con la menor disminución en el peso observada en los embriones tratados con la desoxipiridoxina y el esteroide, es decir se podría suponer que el antagonista del fosfato de piridoxal disminuyera el ca-

tabolismo proteico en músculo y, o, la transformación de aminoácidos en glucógeno en el hígado, procesos ambos incrementados por el esteroide.

La consecuencia de esta "normalización" de los aminoácidos en el hígado que condicionaría la desoxipiridoxina en los embriones que la recibieron junto con la hidrocortisona, podría ser una caída hasta niveles normales de la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica hepática, aumentada por el glucocorticoide.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo no indican un aumento en la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica hepática en los embriones tratados con hidrocortisona, ni una disminución en aquellos que se inyectaron con desoxipiridoxina o con desoxipiridoxina más hidrocortisona.

Estos hallazgos aparentemente estarían en contra de los datos de algunos autores, ya mencionados en párrafos anteriores, acerca del aumento de diversas transaminasas condicionado por glucocorticoides; pero hay que considerar una diferencia importante: en los trabajos mencionados se utilizaron animales adultos (ratas) como sujetos experimentales y en el presente trabajo se emplearon embriones de pollo. Knox³⁴, considera que la inducción de enzimas por exceso de sustrato y, o, corticoides es difícil y en ocasiones imposible de lograr en sujetos embrionarios, lo que podría ser la explicación de los resultados obtenidos en el presente estudio.

De los datos obtenidos se puede pensar que la actividad de transaminasa, cuando menos en el embrión de pollo en nuestras condiciones experimentales, no está directamente relacionada con la formación excesiva de glucógeno producida por la hidrocortisona, ya que en todos los experimentos que se llevaron a cabo la cantidad de glucógeno hepático aumentó considerablemente bajo la administración de esta hormona; sin embargo, la actividad de transaminasa no se elevó. A su vez la administración de desoxipiridoxina a los animales inyectados con hidrocortisona disminuyó hasta niveles normales la cantidad de glucógeno hepático y en este caso tampoco se encontró alteración en la actividad de transaminasa. Esto podría indicar que es posible variar la cantidad de glucógeno hepático, sin que se altere la actividad de la enzima.

Es probable que la elevación de transaminasa glutámico-pirúvica producida por la administración de hidrocortisona se deba a un efecto indirecto y más o menos inespecífico de la hormona, ya que Rosen¹⁶, consigna una elevación de esta transaminasa en animales alimentados con

un exceso de proteína, aún previamente adrenalectomizados, lo que elimina la mediación de glucocorticoides en el aumento de la actividad enzimática. El mismo efecto se obtiene si al animal íntegro se le administra aloxana o se mantiene en ayuno, condiciones ambas que tienen en común un catabolismo proteico muy exagerado en la periferia, lo que podría producir en forma indirecta una elevación de la actividad enzimática sin que necesariamente se pueda invocar la acción de la hidrocortisona.

Pero aún cuando no se haya podido demostrar un aumento de la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica en nuestras condiciones experimentales, se puede considerar una mayor degradación de aminoácidos en el hígado de los embriones tratados con hidrocortisona, ya que hubo una elevación en el glucógeno hepático y en el ácido úrico producido. Esto podría explicarse por una mayor actividad de otros sistemas enzimáticos relacionados con el metabolismo nitrogenado, por ejemplo el acoplamiento entre transaminaciones de diversos aminoácidos y el ácido alfa-cetoglutarico acoplados a la actividad de la deshidrogenasa del ácido glutámico, que de acuerdo con los datos de Engel³⁰ aumenta al ser tratada con hidrocortisona.

La figura I explicaría el efecto de la hidrocortisona en el proceso de transdesaminación y la formación de glucógeno por gluconeogénesis o la producción de ácido úrico, sin que mediara la transaminasa glutámico-pirúvica como una entidad específica.

Las tendencias a valores normales de glucógeno hepático y de ácido úrico, sin cambio en la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica, que se encontraron en los embriones tratados con desoxipiridoxina más hidrocortisona podría explicarse similarmente, suponiendo que por un lado la hidrocortisona aumentara la actividad de deshidrogenasa glutámica y por otro la desoxipiridoxina disminuyera la transaminación inespecífica entre diversos aminoácidos y el ácido alfa-cetoglutarico que depende del fosfato de piridoxal como cofactor (ver figura I).

Existen numerosos datos en la literatura que señalan que la fosforilasa, enzima que degrada el glucógeno, necesita fosfato de piridoxal como cofactor. Esto plantea una posible relación entre la acción de antagonistas de esta coenzima y los niveles de glucógeno en el hígado. En este sentido Eisenstein publicó un trabajo en el que se indica que animales deficientes en piridoxina presentan una menor actividad de fosforilasa hepática. Estos resultados indirectamente refuerzan la observa-

ción hecha en el presente trabajo de que la desoxipiridoxina es, por sí sola, capaz de elevar la cantidad de glucógeno hepático. La explicación de este hecho podría ser que la desoxipiridoxina bloqueara la fosforilasa hepática, compitiendo con el fosfato de piridoxal de la enzima. Al quedar disminuída la actividad de la fosforilasa la degradación del glucógeno no se llevaría a cabo y éste se acumularía. Bajo esta hipótesis los mecanismos que llevarían a la acumulación de glucógeno en hígado por acción de la desoxipiridoxina serían opuestos a los condicionados por la hidrocortisona, lo que explicaría que la combinación de desoxipiridoxina más hidrocortisona no produzca elevación en el contenido de glucógeno hepático. Estos mecanismos se esquematizan en la figura II.

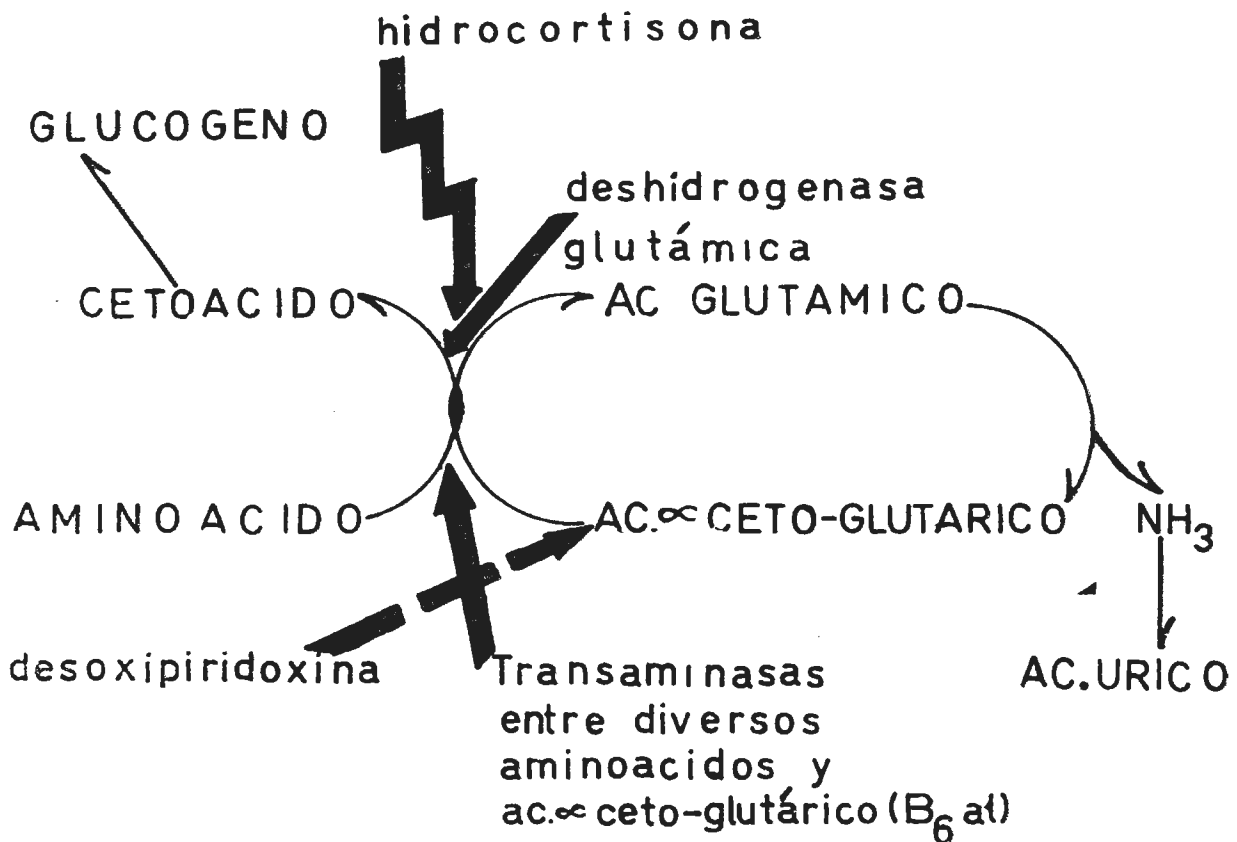


Fig. I. Efecto antagonístico de la desoxipiridoxina y la hidrocortisona sobre el depósito de glucógeno (sin considerar alteraciones en la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica).

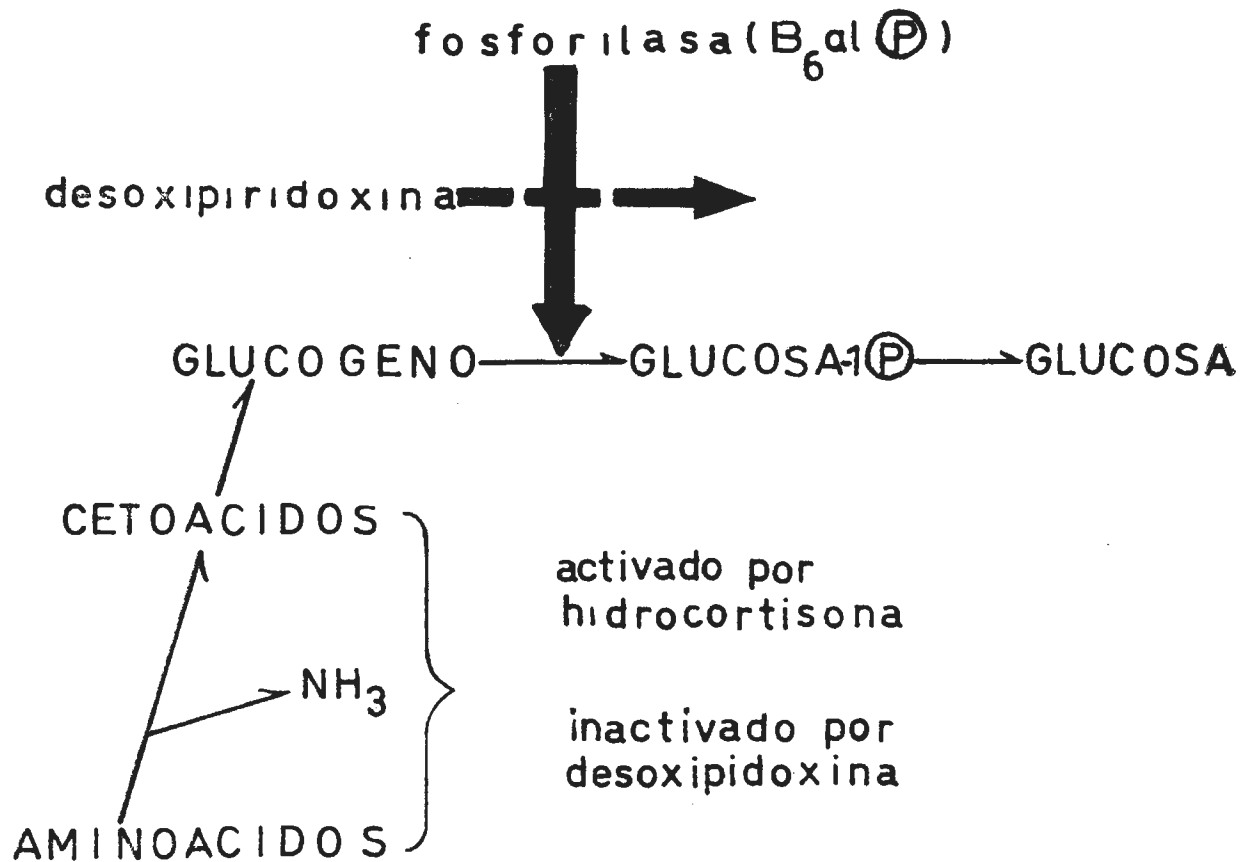


Figura II. Aumento en el glucógeno hepático producido por la acción de la hidrocortisona o la desoxipiridoxina.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. Considerando las estrechas relaciones entre la acción de los glucocorticoides y los procesos metabólicos relacionados con aminoácidos, se estudió el efecto de un antagonista del fosfato de piridoxal, la 2-desoxipiridoxina, sobre algunas acciones de la hidrocortisona en el embrión de pollo en crecimiento como sujeto experimental.

2. Se encontraron los resultados esperados por el tratamiento de los embriones con hidrocortisona, es decir aumento en el depósito de glucógeno hepático y en la producción de ácido úrico así como una depresión notable en el crecimiento. Sin embargo, la elevación de la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica hepática, consignada como un efecto de los glucocorticoides en mamíferos, no pudo demostrarse en el embrión de pollo, posiblemente debido a la pobre respuesta de los sujetos embrionarios para la inducción enzimática.

3. La administración de desoxipiridoxina tuvo algunos efectos cualitativamente semejantes a la administración de hidrocortisona, ya que condicionó una elevación en los niveles de glucógeno hepático y una disminución en el crecimiento. Sin embargo, no alteró la producción de ácido úrico ni tampoco tuvo efecto sobre la actividad de transaminasa glutámico-pirúvica en el hígado del embrión.

4. La administración simultánea de desoxipiridoxina e hidrocortisona disminuyó la depresión del crecimiento, así como la producción de ácido úrico condicionados por el esteroide y llevó los niveles de glucógeno hepático a valores prácticamente normales, pese a que el glucocorticoide o el antimetabolito inyectados aisladamente disminuyeron el crecimiento y aumentaron el contenido de glucógeno hepático.

5. De los datos anteriores puede concluirse que existe un efecto antagónico claro entre la desoxipiridoxina y la hidrocortisona, lo cual sería una comprobación de la hipótesis de trabajo que llevó al desarrollo del presente trabajo.

6. Se discute el posible mecanismo de esta acción antagónica de la desoxipiridoxina sobre el efecto de la hidrocortisona, con base en los datos conocidos sobre el mecanismo de acción de los glucocorticoides.

REFERENCIAS

1. Fruton J. S. Simmonds S., *General Biochemistry*, John Wiley & Sons Inc. Nueva York. 639, 1953.
2. Laguna J. *Bioquímica*, Prensa Médica Mexicana, México, 644, 1960.
3. White Handler, Smith, Stetten. *Principles of Biochemistry*, 2a. Ed., Mc Graw Hill Book Co. Inc. Nueva York, 918, 1959.
4. Rose H. G., Robertson M. C. y Schwartz T. B. *Am. J. Physiol.*, 197: 1063, 1959.
5. Piña G. E. y Laguna J. Datos no publicados.
6. Silber R. H. y Porter C.C. *Endocrinology*, 52:518, 1953.
7. Goodlad G. A. J. y Munro H. N. *Biochem. J.*, 73:343, 1959.
8. Clarck J. H. y Pesch L. A. *J. Pharmacol.*, 117:202, 1956.
9. Clarck I. *J. Biol. Chem.*, 200:69, 1953.
10. Anónimo. *Nutrition Rev.*, 15:23, 1957.
11. Piña G. E. *Tesis Recepcional*, Fac.Medicina, México, 1960.
12. Pratt O. E. *J. Physiol.*, 148:19, 1959.
13. Beaton G. H., Curry D. M. y Veen M. J. *Arch. Biochem.*, 70:288, 1957.
14. Laguna J., Olivera H., Piña G. E., Riviello H. y Guzmán J. *II Congreso Nac. de Ciencias Fisiológicas*, Monterrey, 1959.

15. Harding H. R., Rosen F. y Nichol C. A. *Acta Endocrinológica*, Suplemento, 51:817, 1960.
16. Rosen F., Roberts N., Nira R. y Nichol Ch. *J. Biol. Chem.*, 234:476, 1959.
17. Eisenstein A. B. *Biochim. Biophys. Acta*, 36:580, 1959.
18. Karnofsky D. A. *Trans. N. OY Acad. Sci.*, 13:61, 1950.
19. Cavallero C. y Dimarco A., Fouco L. y Sala G. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 71:619, 1952.
20. Evans H. J. *Proc. Soc. Exp. Biol and Med.*, 83:31, 1953.
21. Sames G. E. y Lathem J. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 78:231, 1951.
22. Danowsky T. S., Greenman L., Tarail R., Mateer F. M. Waid E. N. y Younger J. S. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 77:839, 1951.
23. Villaseñor G., Bravo L., Guzmán J. y Laguna J. *II Congreso Nac. de Ciencias Fisiológicas*, Monterrey, 1959.
24. Anzaldo G. *Tesis Recepcional*, E. Nal. Ciencias Químicas, México, 1957.
25. *Symposium Panamericano de Farmacología y Terapéutica*. Guadalajara, 1961.
26. Bondy P. K. *Endocrinology*, 45:605 1949.
27. Manchester K. L. y Young F. G., *J. Endocrinology*, 18:395, 1959.
28. Wool I. G. y Weischelbaum E. I. *Am. J. Physiol.*, 197:1089, 1959.
29. Glenn E. M., Bowman B. J., Bayer R. B. y Meyer C. E. *Endocrinology*, 68:386, 1961.
30. Engel L. L., Scott J. F. y Colman R. F. *Fed. Proc.*, 19:159, 1960.
31. Lin E. C. C. y Knox W. E., *J. Biol Chem.*, 233:1186, 1958.
32. Lin E. C. C., Morton C. y Knox W. E. *J. Biol. Chem.*, 233:1183, 1958.
33. Knox W. E. y Behrman E. J. *Ann. Rev. Biochem.*, 28:223, 1959.
34. Knox W. E., Auerbach V. H. y Lin E. C. C. *Physiol. Revs.*, 36:164, 1956.