

Los mecanismos de acción hormonal.

ARMANDO GOMEZ PUYOU*

LAS HORMONAS, según la definición clásica, son compuestos químicos producidos por un órgano o tejido, secretados a los líquidos circulantes y que en cantidades muy pequeñas ejercen una marcada acción sobre órganos y sistemas. Las hormonas regulan el crecimiento, la diferenciación celular y el metabolismo de los carbohidratos, las proteínas, las grasas y los electrolitos.

A partir de estos conceptos ha surgido una pregunta fundamental en la mente de los investigadores: ¿Cómo pueden las hormonas en cantidades tan pequeñas ejercer efectos biológicos tan marcados? Esta pregunta ha dado origen a la investigación sobre el mecanismo de acción hormonal y se ha llevado a cabo de acuerdo con los métodos de investigación clásica, que se basa en que para aclarar un efecto biológico, en este caso el hormonal, solamente será posible hacerlo cuando el sistema biológico por estudiar sea liberado de todos los factores que se puedan encontrar en un animal entero. En el caso de la acción hormonal se ha hecho el intento de reproducir bajo condiciones *in vitro* las fases esenciales de la respuesta biológica obtenida *in vivo* bajo la administración de la hormona.

Algunas hormonas producen efectos *in vitro* que parecen ser esencialmente los mismos que los obtenidos *in vivo*; otras, no. Por ejemplo, una de las acciones fisiológicas de la hormona adrenocorticotrópica es aumentar la secreción de hormonas adrenocorticales. Este efecto ha sido posible demostrarlo *in vitro*; se ha logrado producir aumento de la corticosteroidogénesis por medio de la adición de ACTH a glándulas suprarrenales perfundidas y a rebanadas de glándulas^{1, 2} sin embargo otra de las acciones fisiológicas del ACTH es producir el crecimiento y

* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de México.

la diferenciación de la corteza suprarrenal, este efecto no ha sido posible reproducirlo bajo condiciones *in vitro*. Aquí surge la pregunta, ¿es la diferenciación celular de la glándula suprarrenal consecuencia del aumento en la fabricación de esteroides o es esta diferenciación un efecto distinto producido por el ACTH? y otro aspecto importante, ¿por qué, bajo la acción del ACTH, la diferenciación celular solo se encuentra en la glándula suprarrenal, y por qué otros tejidos no son sensibles a esta hormona?

Preguntas de este tipo son las que los investigadores tienen que contestar para que se pueda formular una teoría que pueda explicar el mecanismo de acción hormonal.

Con ninguna hormona se han logrado obtener datos experimentales irrefutables que expliquen con cierta certeza su mecanismo de acción.

Sin embargo, siempre han existido teorías que se han tomado como base de trabajo para tratar de aclarar el mecanismo de acción hormonal. Una de las más antiguas consistía en considerar los efectos biológicos de las hormonas como un tipo de acción farmacológico muy amplio y para explicar porque las hormonas actuaban solo sobre ciertas células se basaban en los conceptos de Paul Ehrlich. Estos consistían en aceptar que la célula tenía ciertos aceptores que reaccionaban con las hormonas para producir los efectos biológicos. Se pensaba que tales receptores se encontraban en la membrana celular, ya que ahí era el primer sitio donde la hormona se ponía en contacto con la célula. Esta teoría nunca pudo ser sujeta a un análisis experimental estricto, debido a la dificultad que existía y existe en el estudio de la membrana, la cual es una entidad químicamente aún mal definida y hasta ahora imposible de aislar.

Esta teoría fue substituída por otra, propuesta por Green, en 1941. Green⁴, un enzimólogo decía, "cualquier substancia que en pequeñas cantidades produce efectos biológicos lo hace participando en algún sistema enzimático". Según ésto, las hormonas actúan participando activamente en algún sistema enzimático, regulando la actividad de un enzima o tal vez controlando la síntesis de enzima misma.

Durante los últimos 19 años esta teoría de Green ha sido ampliamente estudiada, tanto en sistemas *in vivo*, como *in vitro*. Se han descrito en la literatura numerosos efectos de hormonas sobre actividad enzimática. Por ejemplo, se ha encontrado que en la tirotoxicosis se encuentra un aumento en la actividad enzimática de la succin-oxidasa citocromo oxidasa, deshidrogenasa succínica, deshidrogenasa láctica, ade-

neosintrifosfatasa, amilasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, glucosa-6 fosfatasa⁵, en sistemas in vivo. Ahora en sistemas in vitro, se ha encontrado efecto de las hormonas tiroideas sobre las siguientes enzimas: succinoxidasa, deshidrogenasa succínica, deshidrogenasa málica, deshidrogenasa láctica, deshidrogenasa glutámica, etc.⁵. No solamente con la tiroxina se han obtenido efectos sobre sistemas enzimáticos, de los estudios hechos con cualquier otra hormona se puede sacar una lista más o menos parecida y en algunos casos tal vez hasta más grande. De todos estos trabajos hechos hasta la fecha se puede sacar en claro los siguientes puntos:

1. Ninguna hormona se ha demostrado que sea un componente esencial de un sistema enzimático, (recientemente Engel ha logrado obtener un aumento en la actividad de deshidrogenasa glutámica purificada bajo la acción de hidrocortisona⁶. Este efecto in vitro es muy interesante, ya que es el primer experimento en que se ha logrado obtener una modificación de actividad enzimática con una enzima cristalina bajo la adición de una hormona; sin embargo, las implicaciones fisiológicas que este sistema enzimático pueda tener, no es posible saberlo ahora.

2. Las hormonas son capaces de afectar sistemas enzimáticos tanto in vivo como in vitro, por ejemplo, los efectos mencionados en estados de tirotoxicosis y bajo la administración de tiroxina y triyodotironina en sistemas in vitro.

3. Los efectos hormonales obtenidos sobre sistemas enzimáticos no explican la acción fisiológica de una hormona. Un ejemplo de ésto es lo siguiente: después de una adrenalectomía se encuentra una disminución en la actividad de la glutamina sintetasa en hígado, a actividad puede volver a niveles normales ya que bajo tratamiento con hidrocortisona sube el nivel de actividad enzimática. La adición de hidrocortisona in vitro a homogenados de hígado no sube el nivel de glutamina sintetasa. Si el animal es sujeto a actividades catabólicas diferentes a las que se encuentran bajo la administración de hidrocortisona, no se encuentra aumento en la actividad de esta enzima⁷. Estos resultados sirven para indicar que la actividad enzimática tisular se altera con un alto grado de especificidad por hormonas adrenocorticales. Hasta ahora, sin embargo, es imposible relacionar estos datos con los efectos fisiológicos obtenidos bajo condiciones de adrenalectomía o de administración de esteroides. Existen numerosos ejemplos de este tipo en la literatura, por ejemplo véanse las revisiones de Pitt-Rivers sobre mecanismo de acción tiroidea⁵, el artículo de Hechter sobre mecanismos de acción hormonal⁸ y el artículo de Engel sobre mecanismo de acción de los estrógenos⁹.

Cada uno de los efectos obtenidos sobre sistemas enzimáticos en sí, sin embargo, es más razonable considerarlo como consecuencia secundaria a una acción hormonal primaria. El punto importante a considerar es que la reacción primaria pone en acción una cadena compleja de reacciones secundarias muy integradas y altamente organizadas. La forma por la cual la célula bajo la acción hormonal regula estos diversos eventos es completamente desconocida y es uno de los principales problemas biológicos.

No sólo la diferenciación entre los efectos primarios y secundarios es la única dificultad. La investigación bioquímica ha revelado numerosos efectos *in vitro* que hasta ahora tienen un significado fisiológico muy limitado.

Un buen ejemplo de esto último es el obtenido por Peña y col¹⁰. Usando cultivos de tejidos, se estudió el efecto que diversos esteroides podrían tener sobre el metabolismo nitrogenado, encontrando que el crecimiento celular era inhibido por la adición de algunos de los esteroides ensayados, además se encontró que aumentaba la actividad de la glutaminasa. Los estudios *in vivo* demuestran que el catabolismo proteico está muy aumentado bajo la administración de cortisol. La relación entre este hecho experimental *in vitro* con el obtenido *in vivo* es desconocida.

Es aparente entonces que algunas reacciones *in vitro* con hormonas no están relacionadas con el hecho de aclarar el mecanismo celular fundamental que tiene que ver con la respuesta hormonal. Es necesaria alguna prueba que llene ciertos requisitos para valorar el significado fisiológico potencial de un efecto *in vitro* producido por una hormona. Hetcher se ha ocupado del problema⁸ y ha proclamado los siguientes postulados para considerar que una hormona si es capaz de afectar en alguna forma un sistema enzimático *in vitro* y este a su vez provocar la acción fisiológica. Los postulados de Hetcher son los siguientes:

1. La concentración de la hormona necesaria para producir un efecto *in vitro* debe ser del mismo orden de la que se encuentra *in vivo*.
2. El tiempo necesario para producir los efectos *in vitro* debe ser similar al de *in vivo*.
3. La especificidad de la acción hormonal sobre las células de ciertos tejidos *in vivo* debe ser reproducible hasta un punto en que los efectos sobre estos tejidos *in vitro* deben ser más pronunciados que los efectos sobre otros tejidos que no responden *in vivo*.

4. Las hormonas conocidas producen respuestas similares en la mayor parte de las especies; el efecto *in vitro* no debe ser específico de una especie.

5. Entre compuestos relacionados estructuralmente los efectos hormonales observados *in vitro* deben ser paralelos a los efectos obtenidos *in vivo*.

6. Los descubrimientos *in vitro* no deben contradecir los resultados fisiológicos ya establecidos.

Sigue Hetcher "a menos que una hormona llene los puntos mencionados, la importancia fisiológica del hecho debe ser considerada como extremadamente limitada, a menos que la discrepancia pueda ser explicada en términos de factores conocidos".

Por ejemplo, es bien sabido que los glucocorticoides exhiben una marcada acción anti-insulínica *in vivo*, sin embargo, Verzár y Wenner¹¹ probaron la actividad inhibitoria de una gran variedad de esteroides sobre la actividad de insulina en el diafragma *in vitro* y prácticamente todos los esteroides probados ejercieron una acción inhibitoria sobre la insulina; aunque muchos de ellos no ejercen una actividad de este tipo *in vivo*. La desoxicorticosterona, que no tiene una actividad inhibitoria *in vivo* muy marcada se encontró que *in vitro* su actividad era mucho más marcada que en el caso de la hidrocortisona, el glucocorticoide por excelencia.

Una cosa parecida sucede con la tiroxina, se sabe que la tiroxina es capaz de aumentar la respiración y desacoplar la fosforilación oxidativa en las mitocondrias tanto *in vivo* como *in vitro*. La acción *in vitro* es muy parecida a la que se obtiene con el dinitrofenol; entonces si la acción de estas dos substancias, dinitrofenol y tiroxina, son semejantes *in vitro*, era de esperarse que sus efectos *in vivo* fueran más o menos parecidos; sin embargo los efectos obtenidos bajo la administración de la droga y la hormona no son nada semejantes⁵. Existe también otro ejemplo similar con la tiroxina, la D- y L-tiroxina que tienen una actividad biológica muy diferente, presentan el mismo tipo de acción *in vitro*⁵.

Estos ejemplos sirven para ilustrar el hecho de que aunque se logren obtener efectos enzimáticos *in vitro*, su implicación fisiológica es muy difícil de evaluar.

Si los datos obtenidos hasta la fecha sobre efectos de hormonas sobre sistemas enzimáticos invalidan la teoría de Green es difícil decir; sin embargo durante los últimos 19 años se han presentado innume-

rables datos experimentales sobre este tema y en realidad muy poco se ha avanzado. Pero no es posible rechazar la teoría de Green ya que para producir un efecto biológico generalizado como por ejemplo el caso de respuesta hormonal, las enzimas algo tienen que ver y no es poco lo que tienen que decir.

Existe tal vez una explicación para que los efectos que se obtienen *in vitro* no sean semejantes a los que se obtienen *in vivo*.

Puede existir lo que Hetcher ha llamado "conversión de una hormona a un agente activo"⁸. Esta posibilidad está más o menos comprobada en el caso de los corticoides⁸, tiroxina⁵ y hormona del crecimiento¹³. Por ejemplo, en el caso de los corticosteroides se ha logrado demostrar que la hidrocortisona es metabolizada activamente en el hígado⁸. Se demostró que la hidrocortisona es perfundida a través del hígado a una veloz concentración de 184 a 243 microgramos por 100 ml. de sangre, la hormona desaparece a una velocidad de aproximadamente 10 mg. por kilogramo de peso de hígado por hora. Los mismos autores han logrado obtener fracciones de los productos formados y han ensayado estas fracciones, encontrando que algunas tienen una marcada acción mineralocorticoide con una nula actividad eosinopénica. La formación de estos nuevos compuestos con aparente separación de sus actividades biológicas es de importancia obvia y ayudará en gran parte a explicar el mecanismo de acción hormonal. De gran interés sería ensayar estos metabolitos en sistemas *in vitro*.

A pesar de los numerosos esfuerzos que se han hecho para demostrar que el mecanismo de acción hormonal depende de la reacción de una hormona sobre un sistema enzimático, se ha logrado obtener una prueba concreta de que esto ocurra. En todos los casos en que se ha demostrado que una hormona tenga efecto sobre una reacción enzimática los postulados de Hetcher han sido violados en alguna forma. (Excepto tal vez en el caso de Engel⁶, este investigador ha logrado obtener activación de deshidrogenasa glutámica cristalina a una dosis de 10^{-8} M de hidrocortisona). Y la importancia fisiológica en todos los casos ha sido muy difícil de evaluar en la casi totalidad de los casos.

Debido a estas dificultades, los investigadores durante los últimos años han buscado nuevas formas de acercarse al problema de mecanismo de acción hormonal; se ha considerado principalmente el papel que desempeñan las membranas que rodean las células, núcleos y mitocondrias. Los procesos enzimáticos dependen principalmente de la concentración de substrato, enzimas, concentraciones de iones hidrógeno, acep-

tadores y donadores energéticos e iones inorgánicos; en las células todos estos factores dependen de fenómenos estructurales y de superficie en la membrana.

El concepto de que las hormonas puedan actuar sobre alguna parte de la membrana y de esta manera regular la respuesta biológica de un animal a una hormona se origina a partir de los estudios hecha con la insulina. Hasta hace unos años se consideraba, debido a los estudios hechos por los Cori, que la insulina actuaba sobre la glucoquinasa (la enzima que controla la conversión de glucosa a glucosa-6-fosfato, que a su vez da lugar a la formación de CO_2 y H_2O o glucógeno). Sin embargo el descubrimiento de que la insulina aumentaba la captación de glucosa por el músculo de diafragma aislado dió lugar a que se hicieran numerosos experimentos, principalmente por Levine y colaboradores sobre la permeabilidad de la membrana en función de insulina a diferentes azúcares y ahora generalmente se acepta que la insulina actúa favoreciendo el paso de glucosa hacia la célula a través de una alteración de la permeabilidad de la membrana. Existen numerosas revisiones sobre este tema y en esta misma revista aparece un artículo sobre el mecanismo de acción de la insulina^{13,14,15,8}.

Con la tiroxina los estudios actuales también indican que tal vez sus efectos sean debidos a una alteración de la permeabilidad. En este caso las membranas que rodean a las mitocondrias. Las mitocondrias están envueltas en una doble membrana en la cual se encuentran las enzimas y coenzimas de la cadena respiratoria. Bajo la acción de la tiroxina se habían logrado obtener efectos sobre la fosforilación oxidativa⁵ los procesos de óxido reducción de esta cadena respiratoria dan lugar a la formación de ATP, un compuesto de alta energía, a esto se le llama fosforilación oxidativa, bajo la acción de tiroxina se lograba obtener un "desacoplamiento", es decir se lograba obtener un proceso de oxidoreducción en la cadena, pero se producía energía en un nivel más bajo. Tapley¹⁶ en el laboratorio de Lehninger preparó un complejo enzimático activo capaz de catalizar la fosforilación oxidativa a partir de mitocondrias cuyas membranas habían sido destruidas por un tratamiento previo con digitonina, mientras que la tiroxina desacoplaba la fosforilación oxidativa en mitocondrias intactas no lo hacía en los fragmentos preparados por estos autores, por lo contrario, el dinitro fenol sí lograba desacoplar la fosforilación oxidativa en los fragmentos demostrando así que el mecanismo de acción del dinitrofenol y tiroxina es diferente.

Esos datos indicaban que tal vez el efecto de la tiroxina podría estar sobre la permeabilidad mitocondrial. Estos autores lograron demostrar ésto, publicaron un trabajo en el que el paso de agua a través de la membrana mitocondrial se acercaba en la presencia de tiroxina a una dosis de 10^{-8} M que es muy cercana a la dosis fisiológica. Además, mitocondrias obtenidos a partir de animales tiorotóxicos mostraban este mismo efecto y además eran mucho más frágiles. Las mitocondrias obtenidas de animales hipotiroideos mostraban un efecto contrario.

Investigaciones recientes realizadas con esteroides han demostrado que éstos ejercen acción sobre algunas enzimas de la cadena de óxido-reducción. Generalmente los efectos obtenidos han sido del tipo inhibitorio.¹⁷ Es factible suponer, aunque ningún experimento se ha hecho hasta la fecha, de que la acción de los esteroides se pueda deber a una alteración de la membrana mitocondrial, ya que como anteriormente se había mencionado todas estas enzimas se hayan colocadas en la membrana de las mitocondrias. Un hecho a favor de esto es que Gallagher¹⁸ ha encontrado disminución de actividad en algunas de estas enzimas en mitocondrias intactas, sin embargo cuando el rompe las mitocondrias el efecto desaparece, es decir para que aparezca el efecto esteroideo se necesita una mitocondria (membrana?) intacta.

En cuanto a la investigación del mecanismo de acción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) se han realizado también numerosos estudios, se sabe que esta hormona acelera la secreción de corticosteroides a partir de colesterol. Se sabe también que el ACTH parece actuar acelerando un paso determinado en la síntesis de esteroides; el de colesterol a pregnenolona (uno de los primeros pasos en la síntesis de corticosteroides).⁸ Para que el colesterol pase a pregnenolona primero necesita ser degradado, se sabe debido a estudios hechos en el laboratorio de Hetcher, que el colesterol en las glándulas suprarrenales se degrada principalmente en la fracción celular que corresponde a las mitocondrias. El mismo autor también ha demostrado que la acción estimuladora del ACTH sobre síntesis de corticosteroides sólo es posible obtenerla cuando se incuban células intactas (rebanadas de tejido), si se incuban células rotas (homogenados) no se logra obtener un efecto estimulador por parte de la hormona.⁸ Sugiere Hetcher que la acción del ACTH es ayudando al transporte de colesterol de una parte de la célula a otra, ya que en células rotas no se obtiene este efecto y en intactas sí. Y ya que la degradación del colesterol se hace principalmente en las mitocondrias, el mismo Hetcher sugiere, basándose en sus ex-

perimentos, que el ACTH lo que hace es favorecer el paso del colesterol del exterior de las mitocondrias al interior de ellas, alterando la permeabilidad mitocondrial.

Todos estos trabajos presentan una nueva hipótesis de trabajo acerca del mecanismo de acción hormonal. Ninguno de ellos está completo, pero es razonable esperar que las alteraciones enzimáticas obtenidas bajo la administración de cualquier hormona sean debidas a cambios en la permeabilidad de una membrana ya sea celular o mitocondrial. Sin embargo, falta aún mucho para decir si estas alteraciones de permeabilidad puedan ser responsables de todos los efectos que se obtienen cuando a un animal o a un ser humano se le administra una hormona.

REFERENCIAS

1. Hetcher, O.: Fed. Proc. 8, 70, 1949.
2. Saffran, M. y Bayliss, M. J. Endocrinology 52, 140, 1953.
3. K. E., Rakoff, A. E. y Cantarow, A.: *Clinical Endocrinology*, Paul B. Hoeber Inc., New York, 1958.
4. Green, D. E.: *Advances in Enzymology*, 1, 177, 1941.
5. Pitt-Rivers R. y Tata, J. R.: *The Thyroid Hormones*. Pergamon Press, London, 1959.
6. Engel, L. L., Scott, J. F. y Colman, R. F.: Fed. Proc. 19, 159, 1960.
7. Gómez Puyou, A., Laguna García, J., Peña Díaz, Chagoya, V. y Piña Garza, E.: Trabajo presentado en el Tercer Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, México, D. F. 1960.
8. Hechter, O.: En *Vitamins and Hormones XIII*, 293, 1955.
9. Engel, L. L.: En *Vitamins and Hormones* (ibid).
10. Peña Díaz, A., Laguna García, Piña Garza, E. y Gómez Puyou, A.: Trabajo presentado en el Tercer Congreso de Ciencias Fisiológicas, México, D. F., 1960.
11. Verzár, F. y Wenner, V.: *Biochem. J.* 42, 35, 1948.
12. Ottaway, H.: *Biochem. J.* 74, pp. 23, 1960.
13. Stadie, W. C.: *Physiol. Rev.* 34, 52, 1954.
14. Stadie, W. C.: en *Hormonal Regulation of Energy Metabolism*. Charles C. Thomas, Springfield, 1957.
15. Levine, R. y Goldstein, M. S.: *Rec. Progr. Hormone Res.* 11, 343, 1955.
16. Lehninger, A. L.: en *A Symposia on Molecular Biology*. The University of Chicago Press, 1959.
17. Marks, P. A. y Banks.: *J. Proc. Nat. Acad. Cs.* 46, 447, 1960.
18. Gallagher, C. H.: *Biochem. J.*, 74, 38, 1960.