

## CARTAS AL EDITOR

### **Efecto de las poliaminas sobre la inhibición por palmitoil-CoA de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de hígado de rata**

El flujo a través de la ruta de las pentosas fosfato está modulado por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) cuya actividad es controlada por el cociente NADPH/NADP<sup>+</sup> (3, 9). Otro elemento regulador de la actividad lo constituye el par palmitoil-CoA/poliaminas (6).

En el presente trabajo se ha investigado el efecto de algunas poliaminas sobre la inhibición de la G6PDH por el palmitoil-CoA, tanto en ausencia de NADPH, como en relación con el cociente NADPH/NADP<sup>+</sup>, con el fin de conocer la potencia reguladora del par palmitoil-CoA/poliamina, y su mecanismo de acción.

Los sustratos, coenzimas, palmitoil-CoA y poliaminas fueron suministrados por Sigma y los productos de cromatografía, de Pharmacia Fine Chemicals (Suecia).

La purificación de la G6PDH de hígado de ratas Wistar se realizó según el proceso de HORI y SADO (4) y el ensayo de la actividad enzimática tal como se describió previamente (10).

La constante de reversión o reactivación (Kr) se define como la concentración de poliamina capaz de producir una reactivación relativa del 50% desde una inhi-

bición de la actividad enzimática de un 50% (8). El valor de Kr puede calcularse a partir de la ecuación  $(V_o - V_c)/(V_s - V_c) = 1 + K_r/(S)$ , en la que  $V_o$  y  $V_c$  representan los valores de actividad G6PDH cuando se añade agua a la mezcla de reacción en ausencia y en presencia de palmitoil-CoA, respectivamente.  $V_s$  representa la actividad enzimática cuando la poliamina, a una concentración  $S$ , se añade a la mezcla de reacción en presencia de palmitoil-CoA a una concentración que produce una inhibición del 50%.  $K_r$  también puede calcularse gráficamente a partir de la intersección  $-1/K_r$  en el eje  $1/S$  cuando  $(V_o - V_c)/(V_s - V_c)$  se representa frente a  $1/S$ .

Las poliaminas ensayadas revierten la inhibición de la G6PDH de hígado de rata por el palmitoil-CoA según una cinética hiperbólica (fig. 1), igual que en médula adrenal de vaca y levadura (8). Mediante la aplicación de la fórmula anteriormente descrita, o bien realizando la representación que se muestra en la fig. 1, se obtienen valores de  $K_r$  para espermina, espermidina y etilendiamina de 0,8, 1,1 y 1,8 mM respectivamente. Los valores para espermina y espermidina son del mismo orden de magnitud que las con-

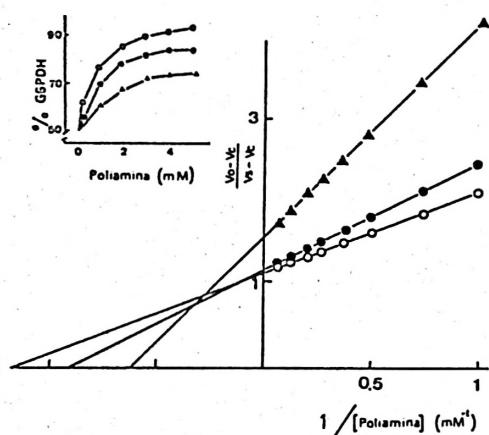


Fig. 1. Efecto reversor de algunas poliaminas sobre la inhibición de la G6PDH por palmitoil-CoA.

La mezcla de reacción contenía: tampón tris-ClH 50 mM (pH 7,5);  $\text{Cl}_2\text{Mg}$  5 mM; G6P 1 mM;  $\text{NADP}^+$  0,02 mM; 45 mU.I. de G6PDH y palmitoil-CoA 0,04 mM. La reacción fue iniciada mediante la adición de G6P y 30 s después se añadió espermina (O), espermidina (●) o etilendiamina (▲) hasta alcanzar las concentraciones que se reseñan. La actividad enzimática se representa como el porcentaje de actividad respecto al ensayo realizado sin palmitoil-CoA.

centraciones fisiológicas de dichos compuestos en hígado de rata (11) y confirman a la espermina como la molécula reversora más potente (7, 8).

Estos resultados, similares a los obtenidos por MITA y YASUMASU (6, 8), sugieren que la  $K_r$  de cada poliamina decrece paralelamente al incremento de elementos de cadena carbonada y al número de grupos amino presentes en la poliamina.

El efecto de la espermina sobre la inhibición de la G6PDH por palmitoil-CoA, en relación con la presencia de NADPH, fue estudiado por métodos cinéticos. En ausencia de NADPH, el palmitoil-CoA se muestra como un inhibidor competitivo de la G6PDH respecto a la G6P y no competitivo respecto al  $\text{NADP}^+$  (fig. 2), un esquema de inhibición que parece universal para el enzima de diversos orígenes (1, 5). La adición de espermina 3 mM a

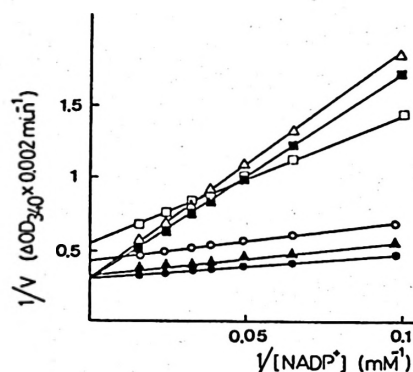


Fig. 2. Inhibición de la G6PDH por palmitoil-CoA y NADPH, y efecto de la espermina.

La mezcla de reacción es como en la fig. 1, aunque con distintas concentraciones de  $\text{NADP}^+$ . Enzima solo (●); palmitoil-CoA 0,04 mM (O); palmitoil-CoA 0,04 mM + espermina 3 mM (▲); NADPH 0,08 mM; palmitoil-CoA 0,04 mM + NADPH 0,08 mM (□); palmitoil-CoA 0,04 mM + NADPH 0,08 mM + espermina 3 mM (■).

una mezcla de reacción que contiene palmitoil-CoA produce un incremento de la actividad G6PDH que llega a alcanzar un 95% de la actividad enzimática obtenida en ausencia de palmitoil-CoA (fig. 2). Si bien la recuperación de la actividad es muy notable, no se llega a alcanzar al 100% de reversión obtenido utilizando como fuente de enzima G6PDH de levadura (8). La inhibición residual responde también a un esquema de tipo no competitivo respecto al  $\text{NADP}^+$ .

El NADPH actúa como un inhibidor competitivo respecto al  $\text{NADP}^+$ , incrementando el valor de la  $K_m$  desde el 4  $\mu\text{M}$  a 36  $\mu\text{M}$ . Sin embargo, la adición de palmitoil-CoA transforma dicha inhibición competitiva en una no competitiva con retorno a valores originales de la  $K_m$  para  $\text{NADP}^+$ . Si bien con relaciones  $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$  reducidas (no fisiológicas) se encuentra inhibición enzimática respecto a la actividad obtenida en ausencia de palmitoil-CoA, en presencia de elevados cocientes  $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ ,

próximos a los fisiológicos, se produce activación respecto a la actividad G6PDH obtenida en ausencia de palmitoil-CoA. La adicción de espermina 3 mM a ensayos de la actividad G6PDH en presencia de NADPH y palmitoil-CoA induce ahora, el retorno al original esquema de inhibición de tipo competitivo ejercido por el NADPH respecto al NADP<sup>+</sup> en ausencia del par palmitoil-CoA/poliamina.

Estos resultados confirman datos previos (10) y parecen indicar que la espermina actúa específicamente sobre el palmitoil-CoA, al cual retira de la acción inhibitoria, dejando exclusivamente esta función para el NADPH. La acción reversora de la poliamina se concretaría en una neutralización de la carga negativa del CoA por las cargas positivas de los grupos amino de la poliamina, lo cual confirma la acción reversora más potente de poliaminas con gran número de grupos amino (2, 7, 8). La menor acción inhibitoria del NADPH en presencia del par palmitoil-CoA/poliamina que en su ausencia (fig. 2), también puede explicarse de acuerdo con la hipótesis sugerida, dada la similitud estructural del NADPH con el Coenzima A.

**Palabras clave:** G6PDH, Palmitoil-CoA, Poliaminas.

**Key words:** G6PDH, Palmitoyl-CoA; Polyamines.

### Bibliografía

1. Block, K. y Vance, D.: *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 263-299, 1977.
2. Caggiano, A. U. y Powell, G. L.: *J. Biol. Chem.*, 254, 2800-2806, 1979.
3. Eggleston, L. V. y Krebs, H. A.: *Biochem. J.*, 138, 577-582, 1974.
4. Hori, S. H. y Sado, Y.: *J. Fac. Hokk. Univ.*, 19, 515-529, 1974.
5. Levy, H. R.: *Adv. Enzymol.*, 48, 97-192, 1978.
6. Mita, M. y Yasumasu, I.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 86, 961-967, 1979.
7. Mita, M. y Yasumasu, I.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 201, 322-329, 1980.
8. Mita, M. y Yasumasu, I.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 226, 19-26, 1983.
9. Rodríguez-Segade, S., Freire, M. y Carrión, A.: *Biochem. J.*, 170, 577-582, 1978.
10. Rodríguez-Torres, A. M., Villamarín, A., Carballal, C., Vázquez-Illanes, M. D. y Ramos-Martínez, J. I.: *Rev. esp. Fisiol.*, 43, 7-12, 1987.
11. Seiler, N., Bolkenius, F. N. y Knodgen, B.: *Biochem. J.*, 225, 219-226, 1985.

A. M. RODRÍGUEZ-TORRES y J. I. RAMOS MARTÍNEZ

Departamento de Bioquímica  
Facultad de Farmacia  
Universidad de Santiago de Compostela (España)

(Recibido el 19 de septiembre de 1986)

