

Departamento de Fisiología
y
Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Valladolid

Efecto del Pentotal sobre la respiración del tejido nervioso del embrión de pollo

por

E. Romo, J. L. Ojeda, B. Herreros y P. Gómez-Bosque

(Recibido para publicar el 15 de julio de 1968)

En un estudio previo (1, 2) se observó que el barbitúrico: 5-etil-5-(1-metilbutil)-2-tiobarbiturato sódico (Pentotal) ejerce una marcada acción teratógena sobre el embrión de pollo. Los mecanismos bioquímicos por los que la droga ejerce dicha acción teratógena no se conocen. En el presente trabajo presentamos los resultados de un estudio del consumo de O_2 por el tejido nervioso de los embriones tratados con Pentotal.

Material y métodos

Estas experiencias han sido realizadas con 30 embriones experimentales y 30 testigos de la raza Strain Cross, los cuales fueron incubados según la técnica habitual. A los primeros se les administró el barbitúrico a las 24 horas de incubación, abriendo la cámara de aire del huevo según la técnica de PRICE y FOWLER (6) y depositando sobre la membrana que cubre al embrión una gota de solución de Pentotal conteniendo 0,2 mg de producto. Seguidamente, se puncionaba la membra-

na a través de la gota de solución para acelerar la penetración de ésta. Todas estas maniobras fueron realizadas en condiciones estériles, y los embriones testigos fueron tratados similarmente salvo que en lugar de barbitúrico se les administró suero fisiológico.

Las determinaciones de consumo de O_2 se hicieron con un aparato de Warburg de tipo convencional, utilizando embriones de 6 a 10 días de incubación. Cada determinación se practicó simultáneamente en los embriones experimentales y en sus testigos correspondientes, en las siguientes condiciones: inmediatamente después de ser sacado el embrión de la incubadora se aisló el encéfalo lo más rápidamente posible y, después de ser pesado, se disgregó en solución Krebs-Ringer-fosfato a 2 a 4° C, con glucosa (3 mg/ml), mediante repetidas succiones con una pequeña jeringa. Una vez obtenida una suspensión homogénea (usualmente en menos de 30 segundos) se ajustaba el volumen a 2 ml con Krebs-Ringer adicional y se transfería al vaso del Warburg, determinando segui-

damente el consumo de O_2 durante 60 minutos de incubación a $37^\circ C$. Los vasos del Warburg llevaban 0,2 ml de potasa al 40 % en el compartimento central y como fase gaseosa aire.

Resultados

Los resultados están resumidos gráficamente en la figura adjunta. En ella se indican los valores medios del consumo de O_2 , expresados en forma de microlitros consumidos en 60 minutos por cada 100 miligramos de tejido. Se observa que existe una clara inhibición del consumo de O_2 en los embriones experimentales de 7 y 8 días con relación a los testigos (-46 y

oxígeno en los embriones testigos a medida que avanza el desarrollo embrionario.

Discusión

Estas experiencias fueron iniciadas en embriones de 6 días porque en este estadio la masa encefálica está desarrollada ya suficientemente para poder manejarla con facilidad. Así, pues, ha sido mera casualidad el que hayamos acertado a estudiar un período del desarrollo embrionario (del 7.º al 9.º día) en el que se evidencia un efecto del Pentotal que no parece manifestarse uniformemente en cualquier estadio.

Se sabe que ciertos barbitúricos, entre ellos el Pentotal, producen una disminución del consumo de oxígeno cuando son añadidos *in vitro* a homogenizados de cerebro o de hígado (3). Nosotros mismos hemos comprobado que el Pentotal añadido directamente *in vitro* inhibe la respiración del tejido nervioso embrionario. No obstante, cuando se emplean en estas condiciones dosis similares a las que administramos a nuestros embriones, dicha inhibición alcanza a lo sumo la cifra del 20 %, en contraste con los valores observados en los embriones de 7 y 8 días tratados inicialmente con la droga. Esta observación, junto al hecho de que no se produzca inhibición en los embriones de 6 días, nos sugiere que el mecanismo de la inhibición observada en nuestras experiencias (figura 1) es distinto al de la acción directa de los barbitúricos *in vitro*, y que sólo se pone de manifiesto al alcanzarse un estadio crítico del desarrollo del embrión.

Los barbitúricos y otras sustancias relacionadas actúan como inductores del enzima ácido delta-aminolevulínico sintetasa en las células hepáticas del embrión de pollo (4), y los embriones de 7 u 8 días de incubación responden ya a esta inducción. En estas circunstancias hay un aumento de la síntesis de porfirinas, pero paradó-

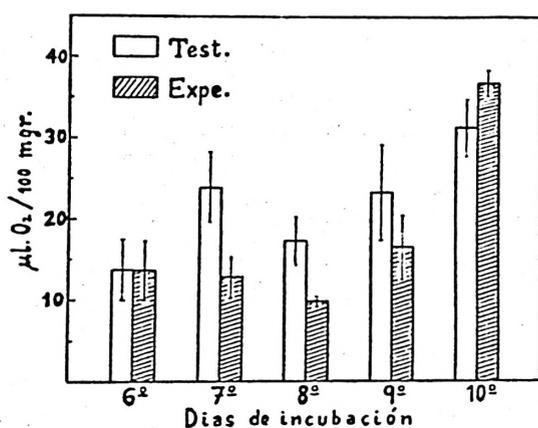


FIG. 1. Respiración del tejido nervioso de embriones de pollo tratados con Pentotal, comparada con la de testigos no tratados. Valores medios \pm E.S. de la media, expresados en microlitros de O_2 /100 mg de tejido.

-42 %, respectivamente), inhibición que persiste aunque menos intensa en los de 9 días (-28 %) y desaparece en los embriones de 10 días. En el sexto día de incubación no se observa diferencia en el consumo de oxígeno entre experimentales y testigos.

Paralelamente, puede observarse un progresivo incremento del consumo de

jicamente ciertos hemoenzimas de las células hepáticas, tales como las catalasas, están disminuidos (7). El Pentotal inhibe también la síntesis de hemoglobina en dermatomas de embrión de pollo incubados con la droga (5). Todos estos datos nos sugieren que la inhibición del consumo de oxígeno en nuestros embriones de 7 y 8 días pudiera ser debida a una disminución de hemoenzimas respiratorios en el tejido nervioso.

Finalmente, en el material estudiado no hemos encontrado relación evidente entre el grado de malformación de los embriones y la inhibición de la respiración. No obstante, no se puede descartar la existencia de un mecanismo bioquímico común para ambos fenómenos.

Resumen

Se ha estudiado la respiración del tejido nervioso de embriones de pollo de 6 a 10 días de incubación, los cuales habían sido tratados con una simple dosis de Pentotal (0,2 mg) en las primeras 24 horas de incubación. Se observó una disminución de la respiración (alrededor del 40 %) en los embriones de 7 y 8 días tratados con la droga, pero no en los de 6 y 10 días.

Summary

Effect of Pentothal on the Respiration of the Nervous Tissue of Chick Embryos

Respiratory studies were carried out on the nervous tissue of chick embryos of 6 to 10 days of incubation. The embryos had been treated with a small dose of Pentothal (0.2 mg) in the first 24 hours of incubation. Embryos of 7 and 8 days, treated with this drug, showed a decrease in respiration (around 40 %) where as those of 6 and 10 days did not register this change.

Bibliografía

1. ALONSO, A.: *Anales del Desarrollo*, 13, 75, 1965.
2. ALONSO, A., OJEDA, J. L., y GÓMEZ-BOSQUE, P.: Comunicación a la VIII Reunión de la Sociedad Luso-Hispano-Americana de Anatomía. Valladolid, 1966.
3. BRODY, T. M., y BAIN, J. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 77, 50, 1951.
4. GRANICK, R.: *J. Biol. Chem.*, 241, 1359, 1966.
5. OJEDA, J. L.: En preparación.
6. PRICE, J. W., y FOWLER, E. V.: *Science*, 91, 271, 1940.
7. SCHMID, R., FIGEN, J. F., y SCHWARTZ, S.: *J. Biol. Chem.*, 271, 263, 1955.

