

AMP CÍCLICO Y HAMBRE CELULAR (*)

FERMÍN SÁNCHEZ DE MEDINA CONTRERAS

INTRODUCCION

El descubrimiento de las funciones del AMP cíclico como mediador de la acción de algunas hormonas ha sido trascendental para la comprensión del mecanismo de acción de estas sustancias y ha supuesto un avance muy considerable para la bioquímica y la fisiología de los seres superiores. El AMP cíclico (o ácido adenílico cíclico) es un nucleótido originado a partir de ATP en una reacción catalizada por la enzima adenil-ciclasa, en la que se separa pirofosfato y se forma un enlace fosfodiéster. La hidrólisis de este enlace supone la pérdida del carácter cíclico de la molécula y de sus propiedades biológicas específicas y se lleva a cabo por la acción catalítica de una fosfodiesterasa (figura 1).

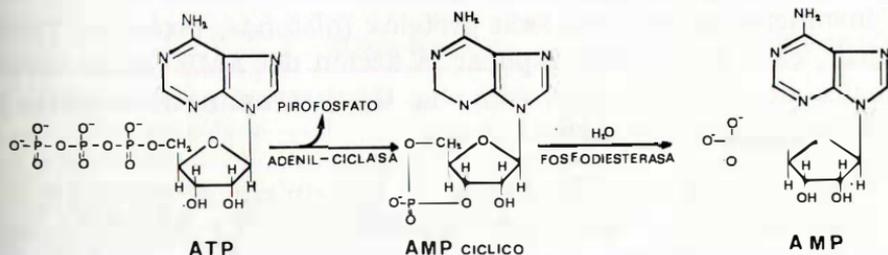
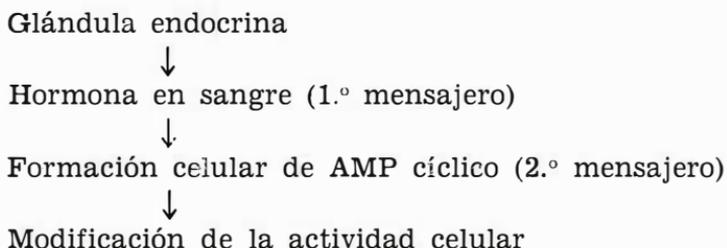


Figura 1.—Formación y degradación enzimática de AMP cíclico.

(*) Resumen de la conferencia pronunciada por el autor el día 8 de diciembre
Granada, dentro del Acto Académico tradicional, como catedrático más reciente del Claustro.

La adenil-ciclase se encuentra localizada en la membrana celular y puede ser modulada en su actividad desde el exterior. Esto es aprovechado para que determinadas hormonas (adrenalina, glucagón, ACTH y otras hormonas polipeptídicas), que no pueden penetrar en la célula, puedan modificar sin embargo la actividad celular a través de la formación de AMP cíclico dentro de la misma. Este nucleótido se comporta, por tanto, como un "segundo mensajero":



Aunque los efectos producidos por mediación del AMP cíclico son muy diversos, parece que en la mayor parte de los casos hay un mecanismo común, que implica la activación de la proteína-cinasa. Esta enzima es capaz de catalizar la fosforilación de diversas proteínas, modificando su actividad. Entre estas proteínas fosforilables se encuentra, por ejemplo, la fosforilasa-cinasa, cuya activación explica el efecto positivo del AMP cíclico sobre la degradación del glucógeno. Otras proteínas fosforilables parecen estar involucradas en la síntesis proteica (histonas, proteínas ribosómicas, etc.) y permiten explicar la acción del AMP cíclico como inductor de enzimas, tales como la tirosina aminotransferasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasa.

El mecanismo de activación de la proteína-cinasa por AMP cíclico ha sido descubierto muy recientemente. La proteína-cinasa tiene dos subunidades. Una de ellas posee actividad catalítica, mientras que la otra no la posee y se comporta como inhibidora de dicha actividad. Por tanto, cuando ambas subunidades están unidas no existe actividad catalítica. Como la subunidad inhibidora tiene más afinidad por AMP cíclico que por la catalítica, la presencia del nucleótido supone la liberación de esta última subunidad y la aparición de la actividad enzimática característica (figura 2).



Figura 2.—Activación de la proteína-quinasa (C: subunidad catalítica; I: subunidad inhibidora)

Son muy numerosas las funciones celulares, hormonales y no hormonales, moduladas por AMP cíclico. En la Tabla 1 se relacionan algunas de estas funciones en seres superiores. Se comprende fácilmente que se trata de un área de grandes posibilidades farmacológicas, aunque las aplicaciones actuales en este sentido son todavía muy escasas. El AMP cíclico puede administrarse fácilmente (sobre todo como derivado dibutirilico), pero, dada la amplitud de efectos que origina, no resulta adecuado como agente terapéutico específico. Más interesante parece la búsqueda de reguladores de la adenil-ciclase o de la fosfodiesterasa, con selectividad tisular. A este respecto cabe mencionar que algunos de los efectos farmacológicos de las bases xánticas pueden interpretarse como consecuencia de su acción inhibidora sobre la fosfodiesterasa, con el consiguiente aumento de las concentraciones celulares de AMP cíclico.

TABLA I
 PROCESOS CELULARES AFECTADOS POR AMP CICLICO
 EN SERES SUPERIORES

Proceso	Efecto
Degradación de glucógeno	+
Gluconeogénesis	+
Lipólisis	+
Cetogénesis	+
Síntesis de hormonas esteroidicas	+
Liberación de insulina	+
Dispersión de los gránulos de melanina	+
Liberación de acetil colina	+
Permeabilidad iónica en epitelios	+
Producción de renina por el riñón	+
Contracción del músculo cardíaco	+
Producción de CIH por la mucosa gástrica	+
Liberación de amilasa por la glándula parótida	+
Agregación de plaquetas	—
Crecimiento «in vitro» de células tumorales	—

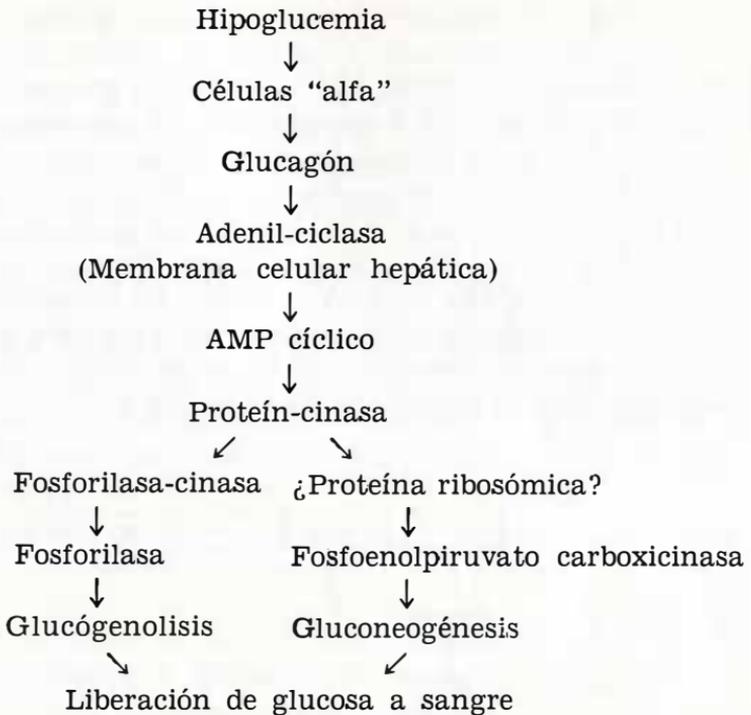
HAMBRE CELULAR EN SERES SUPERIORES

La mayor parte de las células de los organismos superiores pueden utilizar una cierta variedad de compuestos como combustibles metabólicos: glucosa, ácidos grasos, cuerpos cetónicos, ácido láctico, etc. Sin embargo, las células del músculo esquelético y del tejido adiposo exhiben una marcada preferencia por la glucosa —al menos, en determinadas circunstancias fisiológicas—, mientras que las células del sistema nervioso dependen casi exclusivamente del aporte sanguíneo de dicho azúcar. Puede considerarse, por tanto, que la hipoglucemia supone un estado de “hambre celular” en los organismos superiores.

El hígado responde muy sensiblemente rando glucosa a partir de sus reservas de glucógeno (glucógeno-lisis). Sin embargo, como las reservas de glucógeno son limitadas, las células hepáticas poseen la capacidad adicional de sintetizar glucosa a partir de precursores no glucídicos, tales como ácido láctico, glicerol y algunos aminoácidos (gluconeogénesis).

La respuesta hepática a la hipoglucemia está mediada fundamentalmente por pancreáticas. Esta hormona provoca la formación de AMP cíclico en los hepatocitos a través de mecanismos de membrana aun no bien conocidos que implican la transmisión de la señal desde los receptores hormonales específicos hasta la adenil-ciclase. El AMP cíclico activa a la proteín-cinasa y esta enzima, a su vez, produce la activación de la glucógenolisis o de la gluconeogénesis. La activación de la degradación del glucógeno se desencadena a nivel de la fosforilasa-cinasa; la puesta en marcha de la resíntesis de glucosa se realiza fundamentalmente a través de la inducción de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa.

Puede considerarse, por tanto, al AMP cíclico como una señal de hambre celular: una molécula que se sintetiza en el hígado cuando las células periféricas empiezan a carecer de glucosa y que provoca la formación y liberación de la misma a la sangre:



HAMBRE CELULAR EN MICROORGANISMOS

La glucosa puede considerarse como nutriente esencial para la mayoría de los microorganismos. Por ello, la célula microbiana posee habitualmente las enzimas necesarias para su utilización metabólica (enzimas "constitutivas"). Puede hablarse, por tanto, de "hambre celular" cuando falta glucosa en el entorno microbiano y tiene que utilizarse otra sustancia como fuente de energía. En este caso la célula tiene que realizar específicamente la síntesis de las enzimas necesarias para la utilización metabólica de dicha sustancia (enzimas "inducibles"), pero dejará de fabricarlas cuando vuelva a disponer de glucosa en el medio ("efecto glucosa", también llamado "represión por catabolito"). Estos fenómenos están muy bien estudiados en *E. coli* y se conocen con detalle gran parte de los mecanismos bioquímicos responsables de la adaptación, especialmente en el caso de la utilización de β -galactósidos, como la lactosa.

La utilización metabólica de la lactosa requiere la fabricación de una enzima capaz de hidrolizar el enlace glucosídico —la β -galactosidasa— de modo que se produzca glucosa libre, de metabolización normal. La β -galactosidasa es una enzima inducible, que sólo aparece en cantidades apreciables cuando la lactosa es la única fuente de carbono. En estas condiciones también se inducen otras dos enzimas: una galactósido permeasa, que facilita la captación celular de la lactosa, y una tiogalactósido transacetilasa, de función aún no bien conocida. La inducción de las tres enzimas se realiza coordinadamente en respuesta al mismo estímulo y puede ser interpretada en la actualidad de acuerdo con el esquema que se representa en la figura 3.

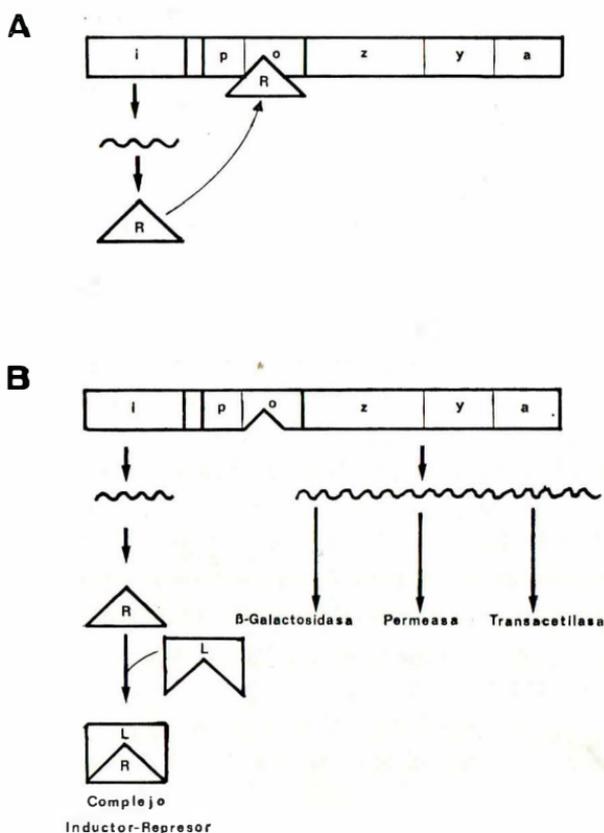


Figura 3.—Regulación de la síntesis de enzimas inducibles (operón de la lactosa) en ausencia (A) y en presencia (B) de lactosa. (R: represor; L: inductor (lactosa)).

Este esquema supone la existencia de distintos tipos de genes: regulador (i), estructurales (z, y, a) y operador (o), formando los genes estructurales y el operador la unidad llamada "operón". Cada uno de los genes estructurales es responsable de la formación de una de las enzimas antes citadas a través de la síntesis de los correspondientes RNA mensajeros. A su vez, la formación de los mensajeros sólo es posible si la región del operador está libre, para que pueda actuar la RNA-polimerasa, enzima responsable de dicha síntesis. Este modelo presume que, en ausencia del inductor (la lactosa), el gen regulador origina la formación de una proteína represora. Esta tiene una gran afinidad por la región del operador, a la que se une, bloqueando la acción de la polimerasa. En estas condiciones no hay síntesis de enzimas inducibles. La presencia del inductor lleva a la formación de un complejo "inductor-represor", que pierde la afinidad por el operador y deja libre esta región. Se facilita así la acción de la polimerasa y tiene lugar la síntesis enzimática. Este modelo ha sido confirmado brillantemente en los últimos años en todos sus extremos. Hoy se conoce la secuencia de bases en las regiones genéticas implicadas y se ha llegado a aislar la proteína represora, sobre la que se están realizando los correspondientes estudios de caracterización.

Una de las características más notables de los fenómenos de inducción en microorganismos es que cesan, total o parcialmente, cuando se añade glucosa al medio en presencia del inductor. Este "efecto glucosa" puede ser explicado en la actualidad en base a este mismo esquema y ha sido el punto de partida para describir la implicación del AMP cíclico en estos fenómenos (*). En efecto, se sabe ahora que en la región vecina al operador existe una zona, llamada "promotor" (p), que tiene que ser reconocida por la RNA-polimerasa como señal de iniciación de la transcripción. Para ello es necesario que una proteína específica se una a dicha región, lo que sólo es posible si dicha proteína está unida, a su vez, al AMP cíclico. El AMP cíclico se forma

(*) Vale la pena resaltar que este último hallazgo es considerablemente más reciente que los descubrimientos ya reseñados en relación al papel mediador del AMP cíclico en la respuesta celular a las hormonas. Se había llegado incluso a pensar que este nucleótido era una adquisición evolutiva de los seres superiores.

también en la célula microbiana a partir de ATP gracias a la actividad catalítica de una adenil-ciclasa. Parece que el catabolismo celular de la glucosa hace disminuir la actividad de dicha enzima y decrece la concentración de AMP cíclico. Ello se traduce en la imposibilidad de que comience DNA con la detención subsiguiente de la síntesis de enzimas inducibles. El efecto sobre la adenil-ciclasa no es obra directa de la glucosa sino de alguno de sus catabolitos, lo que explica la denominación alternativa del fenómeno como "represión por catabolito".

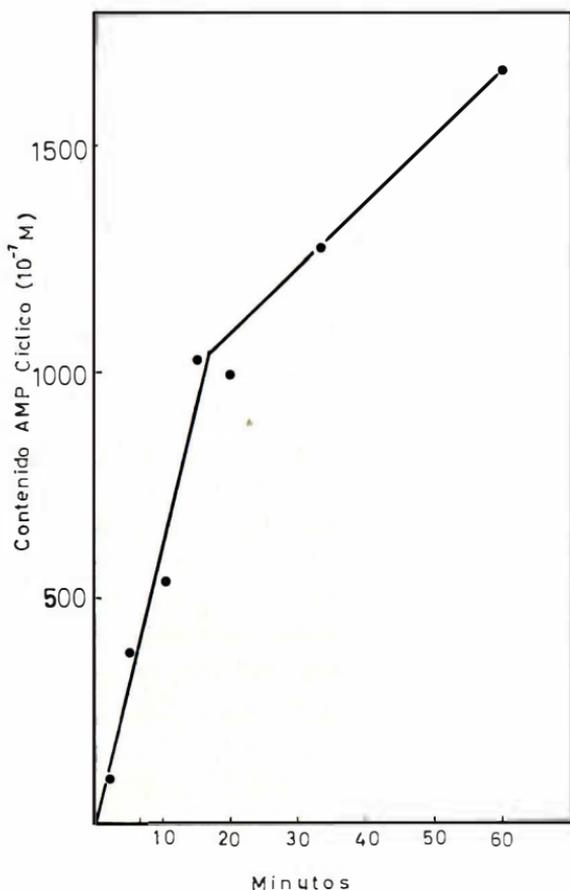


Figura 4.—Efecto de la remoción de la glucosa del medio sobre el contenido

R. W. y Sutherland, E. W.: "Cyclic AMP". Ac. Press, N. Y., 1971)

De lo expuesto se desprende claramente que la formación de AMP cíclico es necesaria para la síntesis de las enzimas que permiten el consumo celular de lactosa. La síntesis de AMP cíclico puede considerarse, por tanto, como una respuesta al "hambre celular". La figura 4 expresa claramente el incremento en las concentraciones celulares de AMP cíclico tras retirar la glucosa del medio.

CONSIDERACIONES FINALES

Resulta evidente que la respuesta a la privación de glucosa es semejante en células tan al de *E. coli* y los hepatocitos. En ambos casos hay una activación de la adenil-ciclasa y un incremento en las concentraciones celulares de AMP cíclico. Y en ambos casos la formación de este nucleótido origina una respuesta adaptativa en orden a la supervivencia. La célula microbiana se equipa para consumir nutrientes alternativos a la glucosa; el hepatocito produce glucosa para el resto de los tejidos.

La semejanza entre ambos tipos de células no es, sin embargo, tan sorprendente si se tiene en cuenta que en los dos casos existe un entorno ambiental cambiante. En efecto, el hígado recibe por la vena porta una serie de nutrientes distintos de forma discontinua. En esto difieren sensiblemente las células hepáticas de las periféricas. Estas últimas han sufrido un proceso adaptativo ligado a la existencia de un medio interno fundamentalmente constante y han "traspasado" a los hepatocitos la tarea de mantener la homeostasia del mismo. Podría especularse que en alguna etapa evolutivamente lejana el hígado habría respondido directamente a las alteraciones de la glucemia sin necesidad de señales hormonal

ta habría sido aprovechada después por el sistema endocrino amplificándola convenientemente. Nuestras experiencias en hígado perfundido parecen encajar perfectamente dentro de este esquema. En efecto, hemos conseguido poner de manifiesto que existe un incremento en las concentraciones celulares de AMP cíclico cuando descienden los niveles circulantes de glucosa (figura 5). Dado que en la preparación utilizada no existen efectos hormonales, la respuesta hepática a la "hipoglucemia" tiene que

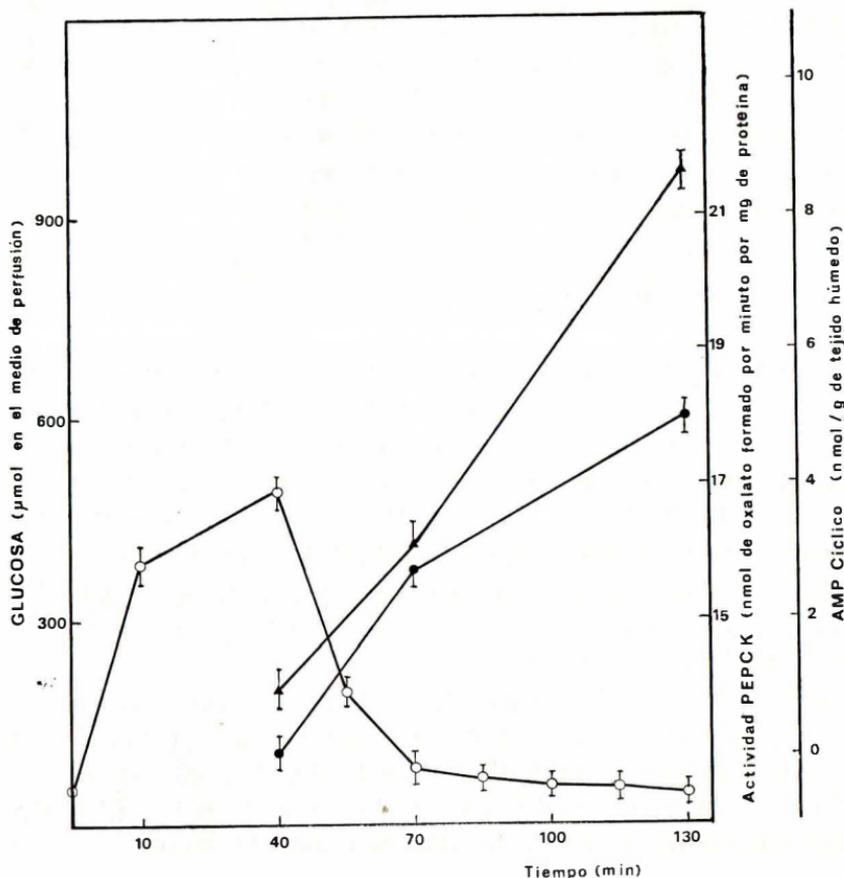


Figura 5.—Efecto del descenso en la concentración de glucosa circulante (o) sobre la concentración de AMP cíclico (\blacktriangle) y la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEPCK) (\bullet) en hígado perfundido de rata. (Moreno, F. J., Sánchez-Urrutia, L., Medina, J. M., Sánchez-Medina, F. y Mayor, F. *Biochem. J.* 150, 51 1975).

ser de naturaleza no hormonal. En estas condiciones se constata también un aumento en la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa, muy probablemente de tipo inductivo. Ello lleva a pensar que el comportamiento de las células hepáticas en estas condiciones es semejante a lo que ocurre "in vivo" a través de los correspondientes mecanismos hormonales (figura 6).

Parece, por consiguiente, que en esta transición evolutiva ha sido decisivo que la adenil-ciclasa se haya convertido en una enzima de membrana, capaz de ser influenciada desde el exterior,

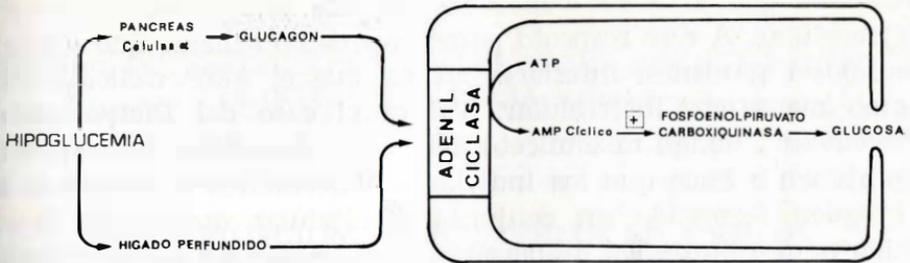


Figura 6.—Regulación hormonal y no hormonal de la fosfoenolpiruvato carboxicinaasa por mediación del AMP cíclico en respuesta a la hipoglucemia

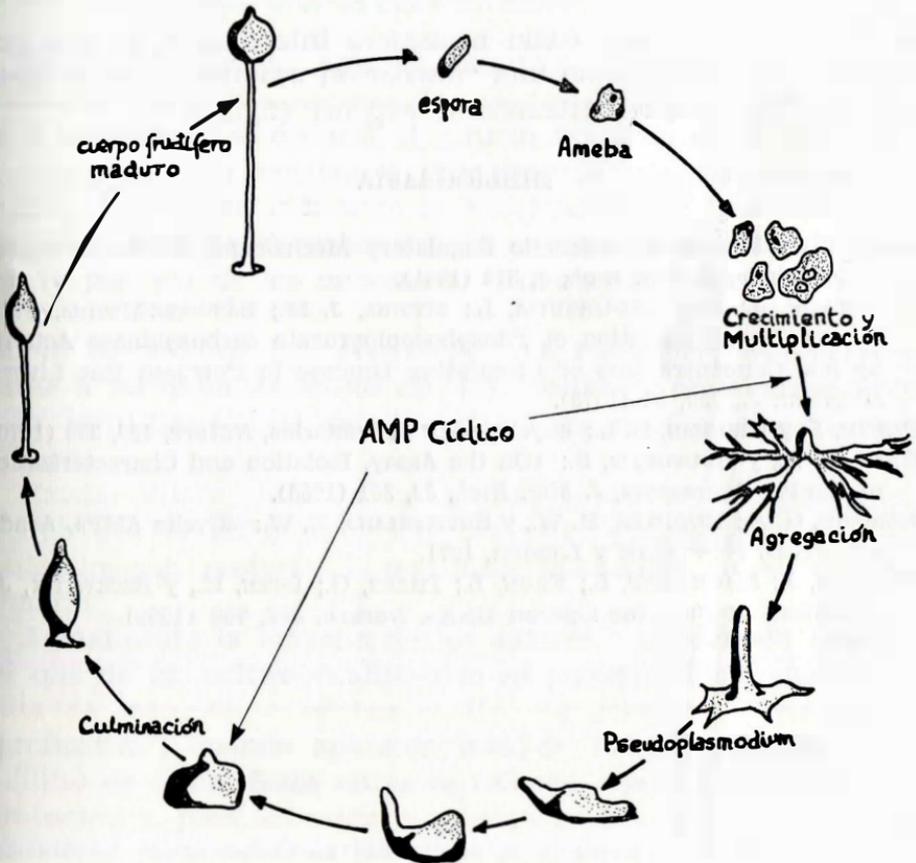


Figura 7. Etapas afectadas por AMP cíclico en el ciclo vital del *Dictyostelium discoideum* (Robison, G. A., Butcher, R. W. y Sutherland, E. W.: "Cyclic AMP", Ac. Press, N. Y., 1971)

mientras que el AMP cíclico ha seguido siendo un mensajero intracelular. A este respecto parece oportuno señalar que existen algunos organismos inferiores en los que el AMP cíclico actúa como mensajero intercelular. Tal es el caso del *Dictyostelium discoideum*, hongo mixomiceto del orden *Acrasiales*. La carencia de alimento hace que los individuos unicelulares e inmóviles se agreguen formando un conjunto pluricelular dotado de movimiento, que puede así desplazarse para buscar un mejor entorno nutritivo. La agregación celular se consigue gracias a la secreción al medio por parte de alguna de estas células de una sustancia —que los antiguos biólogos llamaron “acrasina”— que provoca un aumento de la atracción entre ellas. Se sabe ahora que esta sustancia no es otra cosa que AMP cíclico y que también interviene en otras fases del ciclo de este organismo, actuando en todos los casos como mensajero intercelular, lo que podríamos considerar como una “desviación evolutiva”, de acuerdo con el esquema que acabamos de exponer (figura 7).

BIBLIOGRAFIA

- JACOB, F., y MONOD, J.: «Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins», *J. Mol. Biol.*, 3, 318 (1961).
- MORENO, F. J.; SÁNCHEZ-URRUTIA, L.; MEDINA, J. M.; SÁNCHEZ-MEDINA, F., y MAYOR, F.: «Stimulation of Phosphoenolpyruvate carboxykinase Activity by low Concentrations of Circulating Glucose in Perfused Rat Liver», *Biochem. J.*, 150, 51 (1975).
- PASTAN, I., y PERLMAN, R. L.: «Cyclic AMP in Bacteria», *Nature*, 169, 339 (1970).
- RIGGS, A. D., y BOURGEOIS, S.: «On the Assay, Isolation and Characterization of the *lac* Repressor», *J. Mol. Biol.*, 34, 361 (1968).
- ROBISON, G. A.; BUTCHER, R. W., y SUTHERLAND, E. W.: «Cyclic AMP», Academic Press, New York y London, 1971.
- SHAPIRO, J.; MACHATTIE, L.; ERON, L.; IHLER, G.; IPPEN, K., y BECKWITH, J.: «Isolation of Pure *lac* Operon DNA», *Nature*, 224, 768 (1969).