

ADENOSIN MONO FOSFATO CICLICO (AMPc)

2º Mensajero: Hormonas

Dra. Patricia CUBILLO de TRIGO

Departamento Embriología I. B. B. A.

ABSTRACT.—

La presencia de Adenosin Monofosfato cíclico (AMPc) ha sido descubierta en la mayoría de las células y su principal papel es el de actuar como 2º Mensajero, regulando las acciones de muchas hormonas en células diferenciadas.

Algunos, y posiblemente muchos de los efectos de AMPc en estas células son el resultado del aumento de actividad proteína-kinasa.

El AMPc juega también un papel importante en el crecimiento y desarrollo, aún antes de la aparición de receptores hormonales.

Evidencias recientes han demostrado que el AMPc inhibe la reproducción de muchos tipos de células y una pérdida de la habilidad para formar AMPc puede estar involucrada en la producción de algunos tumores.

I .INTRODUCCION.—

El Adenosin Monofosfato Cíclico (AMPc) fue descubierto por Sutherland E. W. y Rall T. W. (4) mientras investigaban el mecanismo de los efectos hiperglicémicos de glucagón y epinefrina. Por este y otros trabajos en el área de la acción hormonal, Sutherland fue premiado con el Premio Nóbel de Fisiología y Medicina, 1971: Desde entonces se ubica al AMPc en los organismos vivos y como regulador de sus funciones.

II .FORMACION Y METABOLISMO.—

El AMPc se forma de Adenosin trifosfato (ATP) bajo la influencia catalítica de un sistema enzimático adeniliclasa (hoy adenilil—ciclase). Se requiere Mg^{++} para esta reacción que deja pirofosfato como el otro producto. La reacción puede ser reversible bajo condiciones apropiadas, indicando que AMPc es un alto compuesto fosfato energético. (Métodos calorimétricos). (Ver figura 1).

La enzima adenilil-ciclase se encuentra en bacterias, plantas superiores y animales. Su presencia ha sido descrita tanto en células anucleadas como nucleadas. Está asociada con la membrana citoplas-

mática, mitocondria y membrana endoplasmática. Una asociación de adenilil ciclasa con la membrana citoplasmática se ha encontrado en el hígado, células adiposas, eritrocitos de paloma, riñón y huevos de erizo de mar; una forma mitocondrial se encuentra en corteza cerebral, músculo esquelético de conejo, testículo de perro y espermatozoides de caracol.

En células adiposas y retículo sarcoplásmico cardíaco, la enzima se encontró asociada con el retículo endoplásmico y en músculo esquelético, corteza cerebral y glándula pineal, se observó en fracciones microsomal y mitocondrial.

La importancia metabólica de adenilil-ciclasa reside en el hecho de que su actividad responde a una amplia variedad de hormonas y otros compuestos farmacológicamente activos, tales como histamina, serotonina, etc. El mecanismo de su activación hormonal involucra una interacción alostérica entre la hormona y la adenilil-ciclasa o la membrana con la cual está asociada. El estudio de la activación se complica por la naturaleza particular de la enzima; preparaciones solubilizadas, catalíticamente activas, no responden generalmente a la regulación hormonal, lo cual sugiere que el sitio de regulación es parte de la membrana o depende para su funcionamiento de una asociación entre enzima y membrana. La adenilil-ciclasa solubilizada es aun activada por fluor y en algunos casos, fragmentos de membrana responden a hormonas.

Rodbell y Col. demostraron que hay sólo una adenilil-ciclasa en la membrana y que es estimulada por diferentes factores tales como glucagón, secretina, adrenocorticotrofina, estimulador de tiroides y hormonas luteinizantes, epinefrina y otros agentes B-adrenergéticos.

Braun y Hechter estudiaron la biosíntesis de un componente requerido para la estimulación de adenilil-ciclasa de la membrana de células adiposas por ACTH y concluyeron que entidades moleculares discretas mediaban su estimulación por diferentes clases de efectos. El hecho que la forma solubilizada pueda aún ser activada por fluor puede ser explicado por la sugerencia de Birnbaumer, Pohl y Rodbell, de que el fluor encadena o liga la afinidad de sus sitios reguladores por Mg^{++} , posiblemente formando un fluor-magnesio complejo.

Existen dos adenililciclasas diferentes en el hígado, una que responde al glucagón y otra a la epinefrina. Estos estudios se hicieron sobre la base de efectos aditivos de glucagón y norepinefrina en la actividad de ciclasa, destrucción selectiva de la adenililciclasa y separación de las actividades enzimáticas por centrifugación.

Birnbaumer y Rodbell (9) encontraron que la adenilil-ciclasa de membranas plasmáticas purificadas, derivadas del parénquima de hígado de rata, eran activadas por glucagón y Naf, pero no por norepinefrina o ACTH.

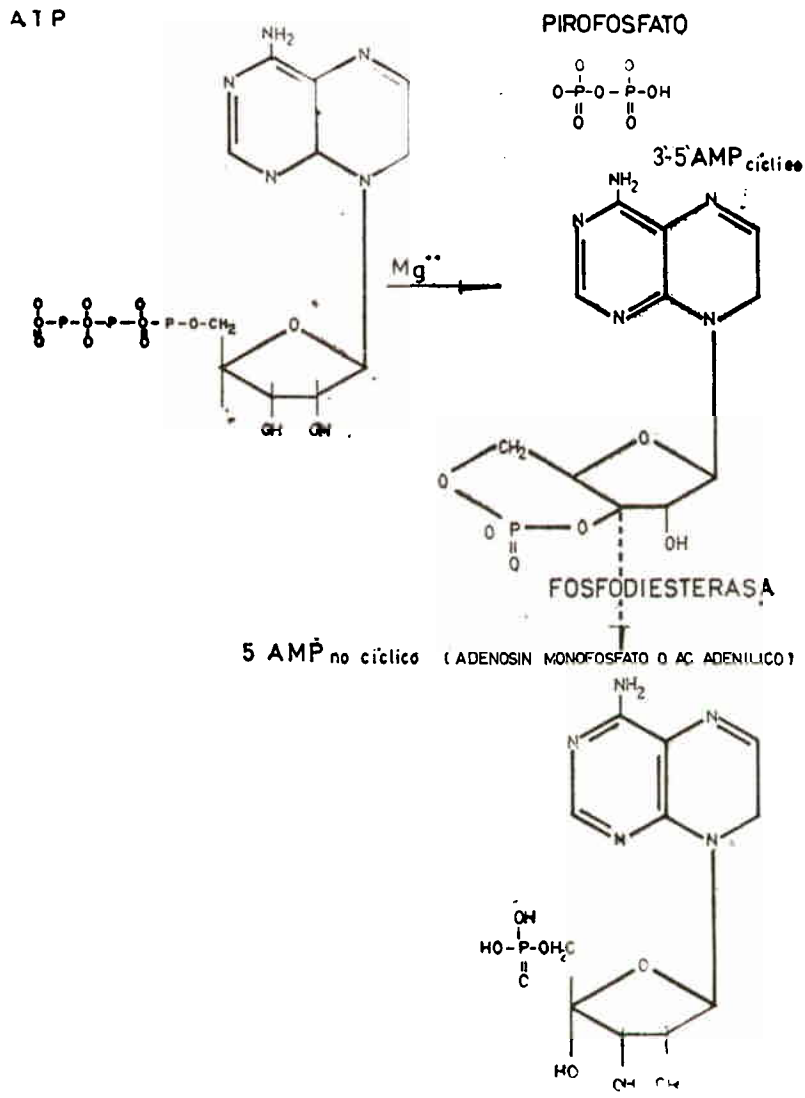
Poco se puede decir de los inhibidores de adenililciclasa. Parece que la insulina inhibe la activación de la adenililciclasa del hígado y las prostaglandinas, el de las células adiposas. Aparentemente hay competencia entre activadores de diferente eficacia.

La regulación de la enzima es también afectada por la edad del animal: la ciclasa de células adiposas epididimarias obtenidas de ratas viejas fue menos sensitiva a la estimulación por fluor y norepinefrina que la de ratas jóvenes, por lo tanto la actividad AMPc—fosfodiesterasa aumenta con la edad.

El AMPc es metabolizado (por hidrólisis a 5'—AMP), bajo la influencia de una o más fosfodiesterasas. (Figura 1).

REACCION ADENIL CICLASA

FIGURA 1



La caracterización de un AMPc — fosfodiesterasa de cerebro y corazón, fue primero enunciado por Sutherland y Rall en 1958; 5'—AMP fue el único producto de la reacción. El Mg^{++} activa y cafeína inhibe

el proceso. AMPc no fue atacado por otra fosfodiesterasa, fosfatasa o R. Nasa.

La inhibición de corazón-fosfodiesterasa por metilxantinas fue competitivo y el orden de efectividad fue teofilina mayor cafeína mayor teobromina.

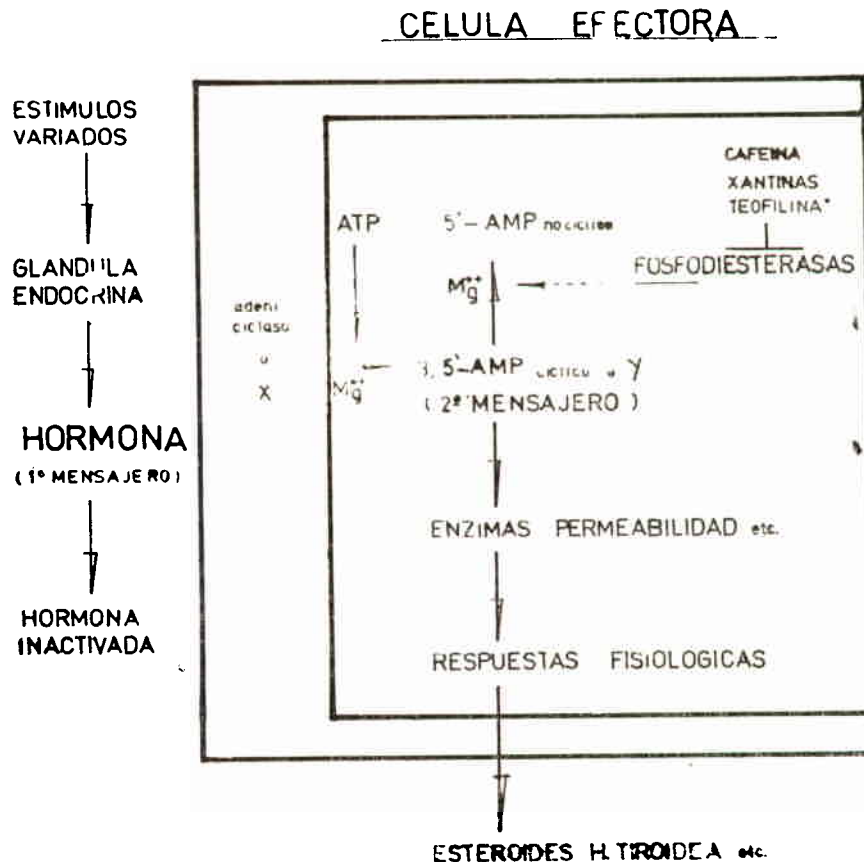
La actividad fosfodiesterasa está distribuida más ampliamente que adenilciclase, estando ubicada tanto en fracciones solubles como particuladas del citoplasma.

III EL CONCEPTO 2º MENSAJERO.—

Se sabe que el AMPc regula muchas de las acciones de una gran variedad de hormonas. Estas hormonas o primeros mensajeros viajan de sus células de origen a las células de sus tejidos "blanco", donde ellos actúan al alterar el nivel intracelular de AMPc.

El AMPc hace el trabajo de la hormona dentro de la célula y por esta razón se le denomina "SEGUNDO MENSAJERO". (ver Figura 2).

CONCEPTO SEGUNDO MENSAJERO FIGURA 2



La hormona actúa aumentando la actividad adenililciclase, lo cual hace aumentar el nivel intracelular de AMPc. Este último interacciona con uno o más sistemas dentro de la célula que produce el efecto que normalmente asociamos con la hormona en cuestión. Así, podemos hablar de la hormona como "PRIMER MENSAJERO" y AMPc como el "SEGUNDO MENSAJERO".

En algunos casos la hormona se produce muy próxima a la "célula blanco", como el caso de la neurohormona del sistema nervioso simpático. En otros casos, la hormona es forzada a viajar grandes distancias como el caso de la hormona adrenocorticotropa (ACTH).

En cualquier caso, las "células blanco" son capaces de responder a solo uno o a pocos de las muchas hormonas que pueden alcanzarlas; la razón para esto es que diferentes células contienen **diferentes receptores**.

Otro factor importante que contribuye a la especificidad hormonal es que **diferentes células contienen diferentes sistemas de respuesta**; así, un cambio en el nivel de AMPc producirá diferentes efectos, dependiendo del tipo de célula en la cual ocurra el cambio.

El AMPc se ha encontrado en muchas células animales, usualmente en cantidades señaladas. Adenililciclase que cataliza la formación de AMPc desde ATP, ha sido encontrado en membranas celulares en todos los tejidos de metazoos estudiados hasta hoy.

Muchas de las hormonas que actúan aumentando el nivel del AMPc, lo hacen estimulando a la adenililciclase y parecería que los receptores para estas hormonas están muy estrechamente relacionados a adenililciclase (Tabla I).

La única enzima actualmente conocida que inactiva al AMPc es una fosfodiesterasa. Esta enzima puede ser inhibida por un número determinado de drogas y otros agentes, sin embargo, no ha sido establecido como un sitio importante de acción de la hormona. Así, estos 2 factores, la ciclase y la diesterasa, juegan un papel importante manteniendo un nivel dado de AMPc en células o en el cuerpo en general.

Un tercer factor importante puede ser la tasa de excreción en fluidos extracelulares. Además, hay trozos de información que nos permite sospechar que uno o más de otros factores pueden jugar un rol en la regulación del nivel de AMPc en algunas células.

Se podría mencionar que varios agentes, incluyendo las catecolaminas, prostaglandinas, melatonina e insulina, son capaces de bajar el nivel de AMPc en algunas células, pero actualmente no entendemos el mecanismo por el cual lo hacen.

Además, mediante las acciones de varias hormonas AMPc regula la descarga de la mayoría o quizás la totalidad de las otras hormonas. En algunos casos, una hormona es descargada por AMPc y enseguida actúa vía AMPc. Ej: podríamos incluir ACTH y TSH y quizás también glucagón.

Eventualmente el concepto de 2º Mensajero puede ser modificado al crear uno más general. Un cierto número de hormonas libe-

Las variadas por AMPc parecen no actuar directamente vía AMPc, pero actúan en un sentido de promover la acción del agente liberador (AMPc), al menos en algunos tejidos. Un ejemplo serían los glucocorticoides actuando en el hígado, es decir el aumento hormonal en presencia de un glucocorticoide aumenta la acumulación de AMPc en células adiposas después de un lento período de una hora o más y esto parece involucrar más que estimulación con existencia de adenililciclase.

Así, las variadas relaciones en el sistema endocrino no pueden ser enmarcados en un pequeño diagrama.

IV .ACTIVIDAD BIOLÓGICA.—

La Tabla II es una lista de la mayoría de los efectos conocidos de AMPc. Sin embargo, las funciones más obvias de AMPc en el hombre incluyendo muchas especies están relacionadas a hormonas y neurohormonas. Además, existen mecanismos reguladores no hormonales tan importantes como los ya mencionados, ej: efecto de iones y otros nucleótidos.

Se ha observado que AMPc parece ser útil a varios microorganismos estudiados. En el moho celular, el nucleótido parece funcionar como un 1er. Mensajero. Ciertas bacterias GRAM — lo utilizan como el mediador del efecto glucosa, la cual regula el nivel de muchas enzimas adaptativas en estos organismos.

Esto es obviamente un efecto no-hormonal, sin embargo los azúcares pueden muy bien ser primeros mensajeros.

Muchas y quizás todas las células contienen una proteína ligada a AMPc, de las cuales al menos una tiene proteína de actividad kinasa-inhibitoria.

El AMPc reduce o previene la habilidad de esta proteína al inhibir la proteína-kinasa y así puede ser el mecanismo por el cual AMP cíclico parece estimular la kinasa.

Una proteína ligada a AMPc se ha encontrado también en bacteria, pero como esta proteína participa en la inducción de varias enzimas está aún sin aclarar.

V .NUCLEOTIDOS CICLICOS EN FLUIDOS CORPORALES DEL HOMBRE.—

Solo hemos mencionado al AMP cíclico, pero éste no es el único 3'—5' nucleótido conocido que está en la naturaleza Guanosina 3'—5' monofosfato (GMPc), también existe y en su formación y metabolismo en varios tejidos no ha sido bien estudiado.

Ahora sabemos muy poco acerca del rol biológico del GMPc; lo que sí está claro es que debe ser diferente de AMPc.

Concentraciones fisiológicas de los dos nucleótidos no tiene acciones similares, y en general se producen completamente independientes una de otra.

La tasa de extrusión en el espacio extracelular puede ser un importante factor regulador del nivel intracelular de AMPc, y también para GMPc.

Exámenes de fluidos corporales han probado en la actualidad el papel de estos nucleótidos en el hombre. Esto nos dá solo una visión limitada, porque parece que los nucleótidos cíclicos no pueden entrar o dejar a algunas células en el cuerpo; y está claro que eventualmente habrá que adaptar las mediciones a células intactas que pueden ser removibles con un mínimo de trauma: Estudios de Oates, Chase y Ball.

AMP Cíclico: Seres humanos normales excretan considerables cantidades de AMP cíclico en orina, del orden de 2 u mol a 9 u mol por día.

Cerca del 60% de este AMPc deriva del plasma por filtración glomerular, mientras que el remanente deriva del mismo riñón.

La hormona paratiroidica (P.T.H.) parece jugar un papel importante en la secreción renal del AMPc. Un aumento sorprendente en AMPc urinario se ve después de la inyección del P.T.H. en el hombre; también se observa una pequeña alza en AMPc. plasmático, principalmente de origen renal. Sin embargo, aún hay dudas acerca de la contribución de P.T.H. a la tasa basal de excreción de AMPc.

Infusiones de CaCl reduce la cantidad de AMPc en la orina, presumiblemente debido a la baja de secreción de P.T.H. (Sin embargo no han sido considerados otros efectos de Ca++ directos o indirectos).

Algún A.M.P.c nefrogénico puede resultar de una acción de vasopresina (A.D.H. = H. antidiurética), la cual actúa vía AMPc. Sin embargo han resultado negativas las tentativas para demostrar una relación entre acción de ADH y AMP cíclico urinario (o AMPc, plasmático). Dosis de ADH que producen sorprendentes efectos en osmolaridad urinaria, parecen no tener efecto en la tasa de excreción de AMP cíclico. Este hecho trae un punto interesante. Se sabe que PTH estimula adenilciclasa primariamente en los túbulos de la corteza renal y que esto puede conducir a aumentar la tasa de producción de AMPc. Por contraste, A.D.H. estimula primariamente adenilciclasa en la médula renal; pero hasta donde se ha podido ver, no lleva a algún aumento en la tasa de producción de AMP. Quizás esto simplemente signifique que AMP cíclico en células medulares renales no pueda existir desde estas células. Se desconoce si la producción de AMP desde células corticales representa algo más que un mecanismo disponible.

Algunos de los efectos de catecolaminas se reflejan en el sistema renal, pero no han sido cuidadosamente evaluados desde el punto de vista de AMPc. Estimulación de B-adrenérgicos parecen disminuir AMPc nefrogénico en experimentos preliminares, pero esto pudo haber sido un resultado neto de efectos, más que de un tipo de célula.

Los niveles plasmáticos de AMPc son bajos y usualmente en un rango 10—8M. Se desconocen los orígenes de niveles basales de AMP

cíclico. Inyección de cantidades moderadas de glucagón en el hombre causa un alza de 30% o más en el plasma y niveles urinarios de AMPc.

El alza en el plasma de AMPc es probablemente de origen hepático, y la filtración glomerular parece tener algo que ver con el aumento de AMPc. urinario.

Infusiones de catecolaminas producen aumentos modestos en el nivel plasmático de AMPc; este efecto parece ser regulado por receptores beta-adrenérgicos. Los niveles urinarios de AMPc también aumentan en respuesta a B-adrenérgicos.

Grandes dosis de calcitonina pueden también aumentar AMPc. plasmático con un pequeño efecto en AMPc nefrogénico.

El efecto de PTH fue mencionado previamente. Así, tenemos 4 hormonas que pueden afectar niveles plasmáticos de AMPc pero sus contribuciones relativas en el nivel basal aún son desconocidas.

GMP Cíclico.— GMPc aparece en la orina humana en concentraciones relativamente altas (cerca 30% del nivel de AMPc) y esencialmente todo es derivado del plasma por filtración glomerular.

Muy poco se sabe actualmente acerca del rol fisiológico de GMPc. (Guanosina monofosfato cíclico).

Infusión del cloruro de calcio aumenta niveles extracelulares de GMP en el hombre.

Grandes dosis de PTH también aumentan el GMP, pero en una menor extensión. Algunos experimentos preliminares realizados por el Dr. Hartmann han sugerido que parte del efecto de iones Ca se debería a una estimulación directa de guanilciclase. (Guanilciclase es análoga a adenilciclase, pero los dos sistemas difieren en varios aspectos importantes Ej: una parte sustancial de guanilciclase en muchas células parece ser soluble).

Dr. Ball y Col. han encontrado que la inyección de agentes alfa-adrenérgicos pueden aumentar el GMPc extracelular. Goldberg y Col., han demostrado recientemente que acetilcolina causa un aumento en el nivel de GMPc (y una caída en el nivel de AMPc) en perfusión aislada de corazón de rata. Anteriormente se había demostrado que la hipofisectomía baja la excreción de GMPc. en la rata, con solo un débil efecto en AMPc.

Sobre la base de éstas y otras observaciones, parece que GMPc está involucrado en un número interesante de estados fisiológicos, farmacológicos y patológicos.

VI. ESTUDIOS CON NUCLEOTIDOS LABILES.—

Cuando AMPc o GMPc radiactivo es inyectado en el hombre, el tiempo promedio para su desaparición es de 30 minutos y menos del 20% de los nucleótidos cíclicos inyectados son excretados en la orina.

Además, factores extrarrenales cuentan para la remoción de la mayoría del material que desaparece desde el plasma. Los volúmenes de distribución de nucleótidos lábiles que fueron encontrados, exceden el espacio extracelular, con una distribución de GMPc en un volumen considerablemente mayor que el ocupado por AMP cíclico.

CONCLUSIONES.—

Trabajos de Chase y Aurbach (comprobado por Sutherland y Col.) demostraron claramente que pacientes con seudohipoparatiroidismo tienen algún defecto relacionado con adenililciclase, indicado por su falla al responder al PTH con un aumento en AMP cíclico urinario.

Por otro lado, pacientes hiperparatiroides, excretan cantidades relativamente grandes de AMPc. y esta secreción se puede bajar después de remover el adenoma, también demostrado por Kamisky.

Reportes recientes demuestran que pacientes con desórdenes efectivos excretan cantidades anormales de AMPc.; excreción urinaria alta en pacientes maníacos y baja en los depresivos.

Robinson, Coppen y Prange, han encontrado niveles de AMPc. en fluido cerebro espinal (niveles normales). La producción de AMPc. en pacientes depresivos está reducido en todas las células del cuerpo y no solo en el Sistema Nervioso Central.

No ha sido estudiada la importancia que tiene el "feed-back" en sistemas AMPc. Se sabe que muchas de las respuestas reguladas por AMPc. ocurren rápidamente y deben también terminar rápidamente. La pregunta es, cómo las células complementan esto?

Podrían las prostaglandinas ser importantes como reguladores "feed-back"? Ellas a menudo parecen ser secretadas en respuesta a las mismas hormonas que estimulan adenililciclase y aún en muchos casos actúan suprimiendo la acumulación del AMP cíclico.

La insulina representa el ejemplo interesante de una hormona que es liberada por AMPc desde un set de células y enseguida va a reducir el nivel de AMPc en otra; esto podría ser como un "feed-back" negativo.

Fenómenos vistos en utero y células adiposas por Robinson, Ho' y Rall, encontraron que después de que la adenililciclase es estimulada en estas células, algo pasa que previene la respuesta a una segunda aplicación relacionado al receptor alfa (Robinson y Ball).

Los autores se preguntan si estos resultados no están relacionados a resistencia a drogas y adicción.

RESUMEN.—

AMP cíclico regula las acciones de un número de hormonas y la liberación de la mayoría de ellas. El control no-hormonal de AMPc sería también importante.

AMPc ha sido medido en el plasma y orina humana. Es excretada en orina, principalmente como resultado de filtración glomerular, pero parte, es producida por el mismo riñón.

AMPc extracelular es aumentado después de la inyección de hormona paratiroidea, glucagón y calcitonina y por el componente B de las catecolaminas.

AMPc ha sido medido en plasma y orina y su presencia en la última es casi resultado de filtración glomerular.

GMPc extracelular aumenta en presencia de calcio, debido también a dosis de hormona paratiroidea y al componente alfa de las catecolaminas.

ABREVIATURAS:

ATP: Adenosín Trifosfato
AMPc: Adenosín Monofosfato cíclico
5' AMP: Adenosín Monofosfato no-cíclico
GMPc: Guanosina Monofosfato cíclico
ADH: Hormona antidiurética.

TABLA I

HORMONAS QUE ESTIMULAN LA FORMACION DE AMPc

H O R M O N A	T E J I D O
GLUCAGON	HIGADO
CATECOLAMINAS	MUCHOS TEJIDOS
HORMONAS LIBERADORAS HIPOT.	ADENOHIPOFISIS
VASOPRESINA	MEDULA RENAL
ADRENOCORTICOTROFINA	CORTEZA ADRENAL
H. LUTEINIZANTE	CELULAS INTERSTICIALES
H. FOLICULOESTIMULANTE	TUBULOS SEMINIFEROS
H. PARATIROIDEA	HUESO Y CORTEZA RENAL
SECRETINA	ADIPOSO
HISTAMINA	CEREBRO
PROSTAGLANDINAS	MUCHOS TEJIDOS

TABLA II

ALGUNOS EFECTOS CONOCIDOS DE AMPc

ACTIVACION PROTEINA KINASA
ACTIVACION FOSFORILASA
INHIBICION DE ACT. GLICOGENO — SINTETAZA
INDUCCION DE CIERTAS ENZIMAS HEPATICAS
ESTIMULACION DE GLUCONEOGENESIS
ESTIMULACION DE LIPOLISIS
INHIBICION DE LIPOGENESIS
AUMENTA PERMEABILIDAD DE AGUA Y ELECTROLITOS
INHIBICION DE CRECIMIENTO CELULAR
RELAJACION DE MUSCULO LISO
AUMENTA FUERZA DE CONTRACCION DEL MUSCULO CARDIACO
MOVILIZACION DE CALCIO
AUMENTA SECRESION GASTRICA H.C.L.
AUMENTA SINTESIS RNA.
AUMENTA SINTESIS DNA.

B I B L I O G R A F I A

1. ROBINSON, G. A., y SUTHERLAND, E. W.
"Cyclic AMP".
Academic Press. Inc., New York, 1971.
2. ROBINSON, G. A., NAHAS, G.G., and TRINER, L.
"Cyclic AMP and Cell Function".
New York Academy of Sciences, New York, 1971.
3. HARTMANN, J. G., ROBINSON, G. A. and SUTHERLAND, E. W.
Ann. Rev. Physiol, 33, 311, 1971.
4. EARL W., SUTHERLAND, M. D.
"On the Biological Role of Cyclic AMP".
J.A.M.A. Nor 16, 1970, Vol. 214 N° 7.
5. JOST, I., PAN RICKENBERG H. V.,
"Cyclic AMP".
Nat. Jenish Hops. Univ. of Colorado; School of Medicine Colorado, 1971.
6. SWILLEN, S., VAN CANTER E., DUMONT, J. E.
"Protein Kinasa and Cyclic 3' - 5' AMP".
Biochimica and Biophysica, Acta, 364. 1974.
7. EKER, P.
"Inhibition of Growth and DNA Synthesis in Cell cultures by Cyclic AMP".
J. Cell. Sci. 16. 301—307 (1974).
8. ROSBERG, S., SELSTAM, G., and AHREN, K.
"Release and degradation of Adenosine 3'—5' Monophosphate by the rat ovary".
Acta Physiol. Scand. 1974. 91. 30A—32A.
9. BIRNBAUMER, L.
"Hormone - sensitive adenyl cyclases. Useful models for studying hormone re-
ceptor funtions in cell - free systems".
Biochimica et Biophysica Acta, 300 (1973) 129—158.
10. KUEHL, F. A., HUMES, J.L., HAM, E. A. and CIRICLO V. J.
"Cyclic AMP and prostaglandins in hormone action".
Intra - Scienza Chem. Rept., Vol. 6, N° 1, (1972).
11. MICHAEL, T., STORY, ROBERT O., HUSSA, and ROLAND A. PATILLO.
"Independent Dibutyryl Adenosine Monophosphate stimulation of Human Cho-
rionic Gonadotropin and Estrogen secretion by malignant Trophoblast-Cells in
vitro".
J. Of. Clin. End. and Met. Nov. 1974. Vol. 39 N° 5.
12. FORADORI, A. y BAZAES, S.
"Comunicacion Personal. 1975.