

ASOCIACION ARGENTINA DE BIOLOGIA Y MEDICINA NUCLEAR

TERCER COLOQUIO ARGENTINO
de
HORMONAS TIROIDEAS

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

Editores: Noé Altschuler
Osvaldo J. Degrossi
Mario A. Pisarev

BUENOS AIRES

06.76.19

REGULACION DE LA BIOSINTESIS DE PROTEINAS Y DE ARN

M.A. PISAREV

Co-autores: L.O. Aiello
D.L. Kleiman de Pisarev

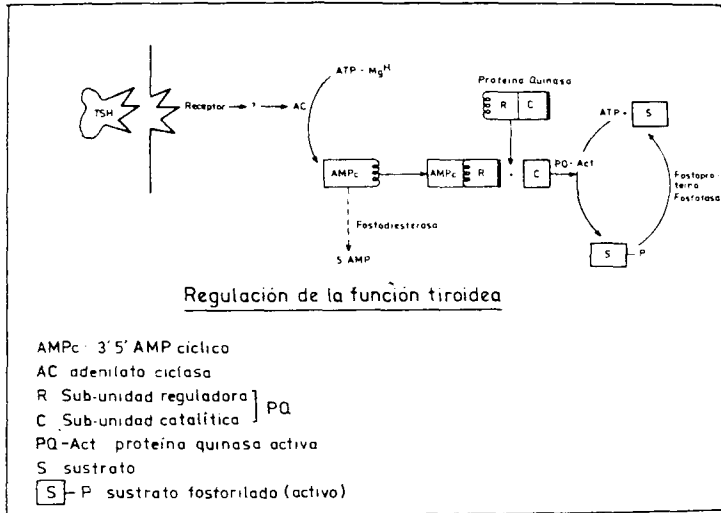
La regulación de la biosíntesis proteica se efectúa en la tiroides a diferentes niveles. Los estudios realizados hasta el presente han mostrado la existencia de factores estimulatorios e inhibitorios. Entre los primeros el más importante, desde el punto de vista fisiológico, es la TSH hipofisaria. Esta hormona es capaz de aumentar la captación de aminoácidos por la célula tiroidea (1) así como de modificar el estado funcional de los ribosomas, con aumento de la fracción ribosomal (2) y de la síntesis de ARN (3-5). La TSH regula la función tiroidea mediante una serie de pasos metabólicos en los que interviene la enzima adenilato ciclasa y el 3'5' AMP cíclico (6) (Figura 1). Luego de interactuar con su receptor específico de membrana, se activa esta enzima con formación del AMPc. Este compuesto actúa mediante el estímulo de la fosforilación de sustratos específicos, reacción catalizada por proteína-quinasa. Se ha demostrado que los ribosomas tiroideos poseen proteína-quinasa estimulables por el AMPc. Trabajos recientes de Sherwin y Tong (7) sugirieron que la regulación de la biosíntesis proteica se ejercería a dos niveles: una acción rápida, citoplasmática (ribosomas) y otra más lenta, probablemente a nivel nuclear (ARN). Trabajos previos nuestros (8) demostraron que otro nucleótido cíclico, el GMPc, era capaz de estimular "in vivo" la síntesis de proteínas. La acción estimulatoria de AMPc y GMPc fue inhibida por la administración previa de yoduro (IK) a los ratones (9). Los presentes trabajos fueron realizados con el objeto de aclarar el mecanismo de la acción de los factores estimulatorios e inhibitorios sobre la síntesis de proteínas y ARN.

Brevemente, se utilizaron cortes de tiroides de vaca, los que fueron preincubados durante 30 minutos con las diferentes sustancias a estudiar y luego marcados durante 60 minutos. Para analizar síntesis de proteínas se utilizó ^3H -leucina. La ^{14}C -galactosamina sirvió para medir la transferencia de carbohidratos a las glicoproteínas. En ambos casos se midió la radiactividad TCA precipitable de un homogenato acuoso determinándose la actividad específica. La síntesis de ARN se estudió con ^{32}P o con ^3H -uridina como precursores. En el primer caso se determinó la actividad específica del ARN con el método del fenol (10) y en el segundo caso según Munro y Fleck (11). Los detalles metodológicos han sido publicados (12,13).

Acción del Yoduro

Se observó que el IK inhibe en un 50% aproximadamente la incorporación de ^3H -leucina a proteínas totales. El rango de concentración inhibitoria varió entre 10^{-3} y 10^{-6}M .

Esta acción del IK fue bloqueada por la adición simultánea de ClO_4K (0.5 mM) o de metilmercaptoimidazol (MMI, a 1 mM), indicando que la misma se ejerce a través de una forma intracelular y organificada del yodo.



En otra serie de experimentos se demostró que tanto la T_3 como la T_4 son capaces de inhibir la síntesis proteica y que, en cantidades equimolares, son más potentes que el yoduro.

Se encontró también que el IK inhibe la síntesis de proteínas solubles tiroideas así como la de tiroglobulina, sin afectar la incorporación de ^{14}C -galactosamina a las mismas.

Posteriormente se analizó la especificidad tisular incubando hígado y glándula submaxilar no encontrándose acción alguna del IK.

En otra serie de experimentos se estudió la acción del IK y de la T_4 sobre la síntesis de ARN. Ambos compuestos inhibieron la incorporación de ^{32}P (80%) y de 3H -uridina (50%) a ARN.

Una posible acción sobre la degradación de ARN fue también analizada. Luego de marcar el ARN con 3H -uridina los cortes fueron incubados durante diferentes tiempos en presencia de actinomicina D, con y sin IK. No se encontró acción sobre la velocidad de degradación del ARN, con lo que puede concluirse que el efecto del halógeno se ejerce sobre la biosíntesis.

Tanto el ClO_4K como el Mn bloquearon la acción inhibitoria del yoduro, lo que concuerda con los resultados anteriores sobre síntesis proteica.

Acción de nucleótidos cíclicos

Se estudió la acción de AMPc sobre la incorporación de 3H -uridina a ARN. En estos experimentos el medio de incubación fue suplementado con 1 mM cafeína. Concentraciones entre 0.5 y 2 mM estimularon significativamente la síntesis de ARN. Esta acción fue bloqueada por la adición de IK.

El GMPc también estimuló la síntesis de ARN y, al igual que el AMPc, aumentó la radiactividad de la fracción PCA soluble.

Por otra parte se analizó la acción de un tercer nucleótido cíclico, el CMPc. Este compuesto, en concentración de 0.5 mM, inhibió la síntesis basal de proteínas y de ARN así como bloqueó totalmente la acción estimuladora que sobre estos parámetros ejerció el AMPc.

Comentarios

La información disponible hasta el presente permite bosquejar un esquema sobre la regulación de la biosíntesis de proteínas y ARN. Por un lado actuarían factores inhibitorios el IK, las hormonas tiroideas y el CMPc. Por otro lado la TSH, el AMPc y el GMPc como factores estimulantes.

El yoduro actúa específicamente sobre la tiroides, mediante una forma intracelular y organificada y, por la comparación de su potencia biológica y los conocimientos previos de fisiología, cabe postular a las hormonas tiroideas como las mediadoras de esta acción. Este hecho tiene especial relevancia en lo que hace al propuesto mecanismo autorregulatorio tiroideo (14, 15). Un fenómeno similar ha sido encontrado al estudiar la acción del yoduro sobre otros parámetros tiroideos (16, 18). El efecto del yoduro y de las yodotironinas se ejercería distal a la formación del AMPc, sin excluir una acción sobre la adenilato ciclasa (18).

En cuanto al CMPc es poco lo que se conoce hasta el presente se ha descrito la existencia de este compuesto en células leucémicas así como un efecto antagonico con el AMPc sobre el crecimiento de las mismas (19). Sin embargo son necesarios más estudios con el fin de aclarar el papel fisiológico del CMPc en la regulación tiroidea.

Con respecto a AMPc y GMPc los presentes resultados "in vitro" confirman previos trabajos sobre la estimulación de la biosíntesis de proteínas (8, 20, 21). La enzima catalizadora de la formación del GMPc ya ha sido demostrada en la tiroides (22). Sin embargo trabajos recientes indican que si bien ambos compuestos, el AMPc y GMPc, tienen acciones paralelas sobre diferentes parámetros, su regulación se efectúa por diferentes mecanismos. La TSH es capaz de aumentar la síntesis del AMPc, sin modificar la del GMPc (23, 24). La concentración intracelular de este compuesto estaría regulada por un mecanismo colinérgico, mediada a través del Ca^{++} (24).

BIBLIOGRAFIA

- 1 WILSON , B., RAGHUPATY, T. y TONG, W.: *Endocrinology* 83: 877 (1968)
- 2 LECOCQ, R. y DUMONT, J.E.: *Biochim. Biophys. Acta* 129, 421 (1966)
- 3 HALL, R.: *J. Biol. Chem.* 238, 306 (1963)
- 4 LINDSAY, R.H., CASH, A.G. y HILL, J.B.: *Endocrinology* 84: 534 (1969)
- 5 LAMY, F., WILLEMS, C. LECOCQ, R., DELCROIX, C. y DUMONT, J.E.: *Horm. Metab. Res.* 3: 414 (1971)
- 6 SCHELL FREDERICK, E. y DUMONT, J.E.: en "Biochemical actions of hormones", G. Litwack ed, vol 1. Acad. Press, New York, N.Y., p. 415 (1970)
- 7 SHERWIN, J.R., TONG, W.: *Biochim. Biophys. Acta* 425: 502 (1976)
- 8 PISAREV, M.A., DE GROOT, L.J., WILBER, J.F. y ALTSCHULER, N: *Endocrinology* 88: 1074 (1971)
- 9 PISAREV, M.A. e TIOIZ, M.E.: *Endocrinology* 90: 1409 (1972)
- 10 PERRY , R.P., de la TORRE, A. y GREENBERG, J.R.: *Biochim. Biophys. Acta* 262: 220 (1972)
- 11 MUNRO, H.N. y FLECK, A.: en "Methods in biochemical analysis" D. Glick ed, vol 14, J. Wiley & Sons, New York, N.Y. p. 113 (1966)
- 12 PISAREV, M.A. y AIELLO, L.O.: *Acta Endocri.* 82: 298 (1976)
- 13 PISAREV, M.A., AIELLO, L.O y KLEIMAN de PISAREV, D.L.: *Acta Endocri.* 83: 313 (1976)
- 14 GALLI MAININI, C.: *Endocrinology* 29: 674 (1941)
- 15 WOLFF, J.: en "Regulation of Thyroid Function" F.K. Schattner Verlag (Stuttgart New York) p. 65 (1976)

- 16 BURKE, G.: J. Clin. Endocri. 30: 76 (1970)
- 17 GREEN, W.L.: Endocrinology 86: 706 (1970)
- 18 VAN SANDE, J. y DUMONT, J.E.: Biochim. Biophys. Acta 313: 320 (1973)
- 19 BLOCH, A., DUTSCHMAN, G. y MAUE, R.: Biochem Biophys. Res. Commun 59: 955 (1974)
- 20 PISAREV, M.A., DE GROOT, L.J. y WILBER, J.F.: Endocrinology 83,313 (1969)
- 21 DE NAYER, P.: Biochimie 55: 1507 (1973)
- 22 BARMASCH, M., PISAREV, M.A. y ALTSCHULER, N.: Acta Endocri. Panam. 4: 19 (1973)
- 23 YAMASHITA, K. y FIELD, J.B.: J. Biol. Chem. 247, 7062 (1972)
- 24 VAN SANDE, J., DECOSTER, C. y DUMONT, J.E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 62: 168 (1975)