

Contenido celular y biosíntesis de poliaminas durante la espermatogénesis del gallo

R. Oliva

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Casanova 143, Barcelona 36

Introducción: Las poliaminas son cationes orgánicos poli-valentes sintetizados tanto por células procariotas como eucariotas, y se hallan también en ciertos virus (Cohen, 1978). La putrescina ($\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$), la espermidina ($\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$), y la espermina ($\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$) son las principales poliaminas presentes en los eucariotas. La distribución de los grupos amino de las poliaminas permite una buena interacción de estos compuestos con los grupos fosfato de los ácidos nucleicos, si bien se asocian también a múltiples macromoléculas polianiónicas.

Entre las múltiples funciones en las que intervienen las poliaminas, cabe destacar su intervención en los procesos de replicación, transcripción, traducción y transformación cancerosa: 1.-Replicación: Tanto estudios realizados con inhibidores de la síntesis de poliaminas, como con mutantes de *E. Coli* deficitarios en la síntesis de poliaminas, indican que estos compuestos tienen una acción esencial en la síntesis de ADN (Morris and Harada, 1980).

2.-Transcripción: Las poliaminas actúan estabilizando la forma Z del ADN, y se encuentran entre los compuestos fisiológicos que más eficazmente inducen la transición B-Z (Behe and Felsenfeld, 1981). A través de este mecanismo podrían incrementar la transcripción. Las poliaminas pueden ejercer también efectos sobre la transcripción a través de su interacción con proteínas de la cromatina (Barbiroli et al. 1978).

3.-Las poliaminas estimulan la traducción por diversos mecanismos: Hay poliaminas asociadas a los ARNt que actúan modificando su estructura terciaria. La asociación de subunidades ribosómicas resulta facilitada por las poliaminas. Las poliaminas forman parte de los ribosomas. (Cohen, 1978).

4.-Transformación cancerosa: Ciertos carcinógenos inducen la ornitín descarboxilasa, produciendo un acúmulo de putrescina (Takigawa et al. 1982). La N⁶-acetiltransferasa, enzima que interviene en la conversión de espermina en putrescina, resulta también inducida, lo que conlleva una depleción de espermina y un mayor acúmulo de putrescina (Matsui and Pegg 1982). Si se inhibe la síntesis de putrescina con α -difluorometilornitina, inhibidor irreversible de la ornitín descarboxilasa, se bloquea la transformación (Takigawa et al. 1982).

Durante la espermiogénesis tiene lugar una pérdida masiva de las proteínas nucleares, histonas y no histonas, y la aparición de la protamina, proteína responsable del empaquetamiento final del ADN y posiblemente de la preservación del mensaje genético (Mezquita and Teng, 1977a,b). En la transición nucleohistona-nucleoprotamina el ADN queda expuesto (Mezquita and Teng, 1977a,b; Loir and Lanneau, 1978) lo que plantea el problema de cómo puede el ADN mantener sus segmentos negativos cercanos unos a otros, y cómo es protegido frente a la acción de nucleasas y mutágenos en una célula que es precisamente la encargada de transportar el mensaje genético.

En ciertos bacteriófagos, el empaquetamiento del ADN resulta notablemente facilitado por las poliaminas (Gosoule and Schellman, 1976), y la espermina actúa como agente anti-mutágeno en ciertos sistemas procariotas y eucariotas (Clarke and Shankel, 1975). Postulamos pues, que las poliaminas podrían desempeñar funciones similares de condensación y protección del ADN durante la espermatogénesis (Oliva et al. 1982).

Además de estas funciones estructurales y de protección del genoma, las poliaminas podrían ejercer el papel de mensa-

jeros intracelulares inductores de las actividades enzimáticas responsables de la transición nucleohistona-nucleoprotamina.

En este trabajo hemos determinado si las poliaminas y las enzimas limitantes de su biosíntesis, se hallan presentes en las espermátidas alargadas, células genéticamente inactivas, donde tiene lugar la citada transición nucleohistona-nucleoprotamina.

Materiales y métodos: Los niveles intracelulares de las poliaminas putrescina, espermidina y espermina han sido determinados en distintas células germinales, separadas por el método de la sedimentación a 1 g. Para ello se obtiene primero una suspensión celular digiriendo el testículo con tripsina en un medio de cultivo (M.E.M.). El método de separación por la velocidad de sedimentación a 1 g, consiste en colocar una capa de la suspensión celular encima de un gradiente de densidad, que evita la formación de corrientes de convección, y esperar unas horas a que las células sedimenten según su volumen celular.

Las poliaminas fueron extraídas de las diversas fracciones celulares con 0,2 M. HClO_4 . Los extractos fueron dansilados y separados por cromatografía en capa fina de gel de sílice, y la cuantificación se realizó haciendo el escan "in situ" de los derivados dansilados fluorescentes (Dion and Cohen, 1972).

Las actividades ornitín descarboxilasa y S-adenosil-L-metionina descarboxilasa se ensayaron midiendo la producción de $^{14}\text{C-CO}_2$ a partir de los sustratos $^{14}\text{C-ornitina}$, y $^{14}\text{C-S-adenosil-L-metionina}$, según se ha descrito por Jänne y Williams-Ashman (1971a,b).

Resultados y discusión: El cociente espermina/ADN ò espermidina/ADN es similar tanto en células premeióticas y meióticas (genéticamente activas) como en las espermátidas

alargadas (genéticamente inactivas) (fig.1). La reducción del volumen celular, que tiene lugar durante la espermiogénesis, sin una disminución paralela del contenido celular de espermina y espermidina, sugiere que la transición nucleohistona-nucleoprotamina puede tener lugar en un ambiente con elevada concentración de poliaminas.

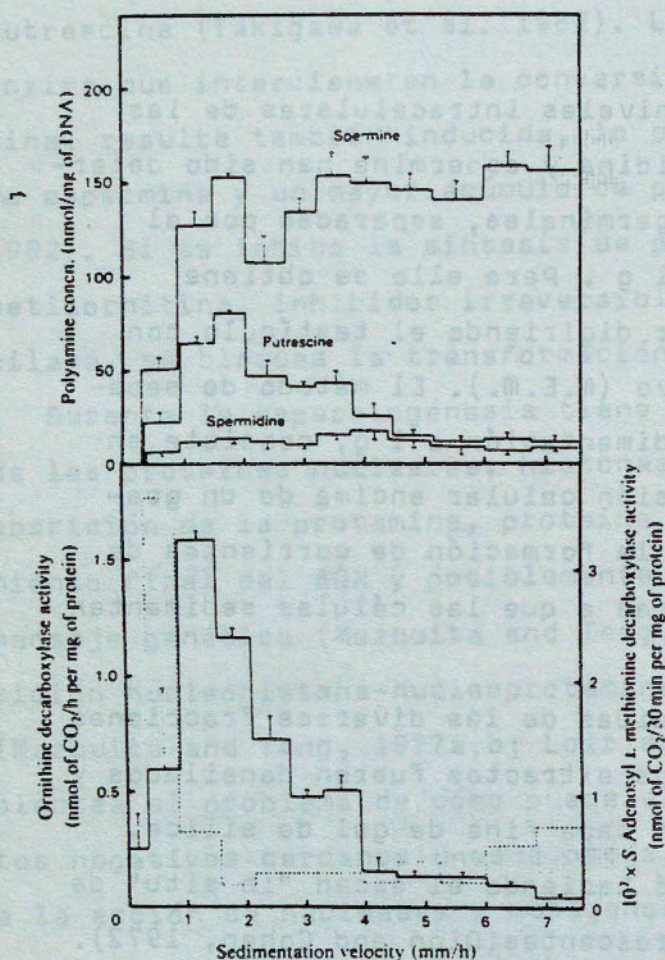


Fig. 1. Contenido celular de poliaminas y actividades ornitín descarboxilasa y S-adenosil-L-metionina descarboxilasa en células testiculares de gallo separadas en función de su velocidad de sedimentación a gravedad unidad.

El cociente putrescina/ADN aumenta progresivamente a lo largo de la espermatogénesis, alcanzando su máximo en las espermátidas alargadas.

La actividad ornitín descarboxilasa aumenta

paralelamente a los niveles de putrescina. La actividad S-Adenosil-L-metionina descarboxilasa sufre un gran aumento al final de la espermiogénesis. Hay que tener en cuenta que la actividad de estas enzimas depende de la disponibilidad de los precursores, la proporción de poliaminas conjugadas, la rapidez de eliminación de las poliaminas y la concentración de las propias poliaminas (Jánne et al., 1978).

Los niveles de poliaminas en los espermatozoides del conducto deferente son bajos, y las actividades ornitín descar-

boxilasa y S-adenosil-L-metionina descarboxilasa indetectables.

Los niveles de poliaminas detectados al final de la espermiogénesis resultan compatibles con el postulado efecto estructural y protector que estas moléculas ejercen sobre el ADN expuesto durante la transición nucleohistona-nucleoprotamina. Por otra parte hemos investigado algunos de los efectos de las poliaminas sobre sistemas enzimáticos que modifican las histonas, tales como la acetiltransferasa, la desacetilasa (Oliva and Mezquita, 1982) y la poli-ADP-R-polimerasa. La elevación de los niveles de poliaminas, dentro de ciertos límites, resulta congruente con los efectos observados sobre tales sistemas enzimáticos durante la transición nucleohistona-nucleoprotamina.

Bibliografía:

- BARBIROLI B., MASOTTI L., MORUZZI M.S., MONTI M.G. and MORUZZI G. (1978) Adv. in Pol. Research (Cambell, R.A....eds.), Vol.1, pp. 217-229, Raven Press, New York
- BEHE M., FELSENFELD G. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 1619-1623
- CLARKE C.H. and SHANKEL D.M. (1975) Bacteriol. Rev. 39, 33-53
- COHEN S.S. (1978) Adv. in Pol. Research (Cambel, R.A....eds.), vol.1 pp 1-10, Raven Press, New York
- DION A.A. and COHEN S.S. (1972) J. Virol. 9, 419-422
- GOSULE L. and SCHELLMAN J. (1976) Nature (London) 259, 333-335
- JÄNNE J. and WILLIAMS-ASHMAN G.H. (1971a) J. Biol. Chem. 246 1725-1732
- JÄNNE J., PÖSCÖ H. and RAINA A. (1978) Biochim. Biophys. Acta 473, 241
- LOIR M. and LANNEAU M. (1978) Exp. Cell Res. 115, 231-243
- MATSUI I. and PEGG A.E. (1982) Cancer Res. 42, 2990-2995
- MEZQUITA C. and TENG C.S. (1977a) Biochem. J. 164, 99-111
- MEZQUITA C. and TENG C.S. (1977b) Biochem. J. 170, 203-210
- MORRIS D.R. and HARADA J.J. (1980) Pol. in Biomed. Res. (Gaugas J.M.)
- OLIVA R., VIDAL S. and MEZQUITA C. (1982) Biochem. J. 208, 269-273
- OLIVA R. and MEZQUITA C. (1982) Nucleic Acids Res. 10, 8049-8059
- TAKIGAWA M., VERMA A.K., SIMSIMAN R.C. and BOUTWELL R.K. (1982) Biochem. and Biophys. Res. Commun. 105, 969-976