

ISBN: 970-27-0770-6

**ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA RADIOMÉTRICA PARA LA
DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ORNITINA DESCARBOXILASA
EN TEJIDOS DE RATÓN**

Edgar Oswaldo Zamora González , Anne santerre Lucas, Ramón Reynoso Orozco
Licenciatura en Biología
Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Laboratorio de Cromatografía

La ornitina descarboxilasa (ODC) es una de las enzimas limitantes del metabolismo de las poliaminas (PAs). La ornitina es su sustrato y es un aminoácido producto de la transformación de la arginina. En la reacción la ODC descarboxila a la ornitina y en el lugar del grupo carboxilo adiciona un grupo amino, para formar a la putrescina (Pu) (1). La Pu es la primer molécula en la vía de biosíntesis de las PAs. Tanto la ODC como las PAs son ubicuas y importantes ya que participan en la regulación de la proliferación y diferenciación celular, así como moduladores de expresión génica, durante el ciclo celular (2).

En eucariontes la ODC esta conformada de un homodimero (106 kDa). Hacia uno de los extremos C-Terminal de las subunidades que conforman la ODC, se encuentra el sitio de interacción con el sustrato y en el extremo N-terminal encontramos el sitio de unión del fosfato de piridoxal que actúa como cofactor. Por otra parte la ODC cuenta con sitios de unión para la antizima (AZ) los cuales están ubicados en el extremo C-terminal (3). La unión de la AZ a la ODC provoca un cambio conformacional que expone un sitio de unión oculto en el extremo C-terminal, que facilita la degradación de la ODC por el proteosoma 26S (4 y 5).

En vertebrados, la actividad de la ODC varía según el tejido (6).

La ODC tiene una actividad baja en células en reposo. Durante el crecimiento celular existe un aumento dramático en la actividad de la ODC (7). En el caso de tejidos de células neoplásicas el contenido de ODC, y por consiguiente el de las PAs, se eleva considerablemente en la mayoría de los tipos de cáncer. Y se propuso que la ODC es blanco de algunos oncogenes que la sobre regulan (1).

Las PAs ubicuas son diamina-putrescina (Pu), triamina-espermidina (Spd) y tetramina-espermina (Spm) son necesarias para la proliferación y la homeostasis celulares (8). Y la determinación de sus niveles es un biomarcador de mucha utilización sin embargo, no es suficiente determinar el contenido de PAs para el estudio de su metabolismo, ya que el contenido intracelular es regulado de manera muy precisa a través de su biosíntesis, degradación, incorporación y/o excreción (9). Por lo tanto es útil cuantificar también la actividad de las diferentes enzimas involucradas en las vías metabólicas. La actividad de la ODC se ha medido en diferentes tipos de células y tejidos por radiometría entre ellas

hongos protozoarios y algunos tejidos de mamíferos. Ésta consiste en exponer ornitina marcada radiactivamente (C^{14}) en su COOH al extracto celular y cuantificar la actividad enzimática a través de la liberación del subproducto $^{14}CO_2$ con un contador de centelleo (1).

En el presente trabajo se realizaron modificaciones al protocolo elaborado para protozoarios y hongos en cultivo por Calvo-Mendez (1993)(10) para determinar la actividad de la ODC en tejidos diferentes de ratón. Las modificaciones críticas para la activación de la ODC de estos extractos fueron de temperatura ($42\text{ }^\circ\text{C}$) y de tiempo de incubación ($90'$) además se mostraron una mayor actividad en la ODC renal con respecto al intestino, hígado y mesotelio murinos.

Bibliografía

- (1) David M, Morgan L, 1998. Polyamine protocols. Humana Press. Totowa, New Jersey, USA.
- (2) Mc Cann P., Pegg E.A., Sjoerdsma A. 1987. Inhibition of polyamine metabolism. Academic press. Orlando, Florida, USA.
- (3) Almurd J.J., Oliveira M.A., Kern A.D., Grishin N.V., Phillips M.A. y Hackert. M. L. 2000. Crystal structure of human Ornithine Decarboxylase at 2.1 \AA resolution : structural insights to antizyme binding. *J. Mol. Biol.* 295:7-10.
- (4) Murakami Y., Matsufuji S., Hayashi S., Tanahashi N., Tanaka K. 2000 Degradation of Ornithine decarboxylase by the 26S proteasome. *Biochem. Biophys. Res. Comun.* 267: 1-6.
- (5) Murakami Y., Matsufuji S., Kameji T., Hayashi S., Igarashi K., Tamura T., Tanaka K. y Ichihara A. 1992. Ornithine decarboxylase is degraded by the 26S proteasome without ubiquitination *Nature.* 360: 597-599.
- (6) Tsirka S. y Coffino P. 1993. Dominant negative mutants of Ornithine Decarboxylase. *The Journal of Biological Chemistry.* 267(32): 23057-23062.
- (7) Bowlin T.L., McKown B.J. y Sunkara P.S. 1986. Ornithine Decarboxylase Induction and Polyamine Biosynthesis Are Required for the Growth of Interleukin-2-and Interleukin—3-Dependent Cell Lines, *Cellular Immunology* 98:341-350.
- (8) Ji-fang WANG., Rui-bin SU., Ning WU., Xin-qiang LU., Yin LIU. y Jin LI. 2005. Inhibitory effect of agmatine on proliferation of tumor cells by modulation of polyamine metabolism. *Acta Pharmacologica Sinica.* 26(5): 616-622.
- (9) Tabor CW. y Tabor H. 1984. Polyamines. *Annu Rev Biochem* 53: 749-790.
- (10) Calvo-Méndez C., Villagómez-Castro J. y López-Romero E. 1993. Rapid loss of ornithine decarboxylase activity during encystation of *Entamoeba invadens*. *FEMS Microbiology letters.* 112: 131-134.