

CARTES AL DIRECTOR

ISOENZIMAS DE LA FOSFOGLICERATO-MUTASA: VALOR DIAGNÓSTICO Y FACTORES INACTIVADORES

Núria Durany y Josep Carreras

Unidad de Bioquímicas de la Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.
Casanova, 143. 08036 BARCELONA

Los isoenzimas, o distintas formas moleculares de un mismo enzima existentes en el organismo humano, constituyen un elemento importante de diagnóstico; ya que, al ser su distribución específica de distintos tejidos, son un buen marcador bioquímico de muchas enfermedades que cursan con alteraciones específicas de ciertos órganos. La utilidad de los isoenzimas séricos de la creatina quinasa (CK) para el diagnóstico del infarto de miocardio o de los isoenzimas de las transaminasas para el diagnóstico de las hepatopatías es conocida por todos.

En nuestro laboratorio se vienen estudiando desde hace varios años los isoenzimas de la fosfoglicerato mutasa (PGM), enzima de las vías glicolítica y neoglucogénica que cataliza la reacción de interconversión del 3-fosfoglicerato y el 2-fosfoglicerato.

Estudios de nuestro (1-5) y de otros laboratorios (6,7) han demostrado que en los tejidos de mamífero se sintetizan dos tipos de subunidades de la PGM codificadas por dos genes distintos: la subunidad denominada tipo M, por ser específica del tejido muscular, y la su-

bunidad denominada tipo B, por ser típica del tejido cerebral. De la combinación de estas dos subunidades resultan tres isoenzimas de la PGM (tipos BB, MB y MM), cuya proporción relativa varía en los diversos tejidos y a lo largo del desarrollo, de forma muy parecida a como varían los isoenzimas de la CK, constituidos también por la combinación de dos subunidades tipo M y B.

En los tejidos fetales únicamente se halla presente la PGM tipo BB; pero durante el desarrollo ontogénico se produce en el tejido muscular una transición hacia la PGM tipo MM a través del híbrido MB; completa en el caso del músculo esquelético e incompleta en el caso del músculo cardíaco. Como consecuencia, en los mamíferos adultos, el músculo esquelético contiene casi exclusivamente el isoenzima tipo MM; el corazón posee en proporciones significativas los tres isoenzimas, y los demás tejidos prácticamente sólo poseen el isoenzima tipo BB. Cabe señalar que en las células espermáticas tiene lugar, también, una transición de la PGM tipo BB a la PGM tipo MM durante el proceso de maduración (8,9).

Nuestro laboratorio ha purificado los isoenzimas de la PGM de diversos orígenes y los ha caracterizado desde el punto de vista estructural y funcional (10,11); ha clonado los cDNA de las subunidades M y B (12,13); ha caracterizado el gen de la subunidad M (14,15) y ha estudiado los factores implicados en el control de su expresión (16-18). Recientemente, ha iniciado nuevas líneas de investigación referentes a las alteraciones de los patrones isoenzimáticos de la PGM en los tumores humanos y a las alteraciones del patrón sérico en pacientes con infarto agudo de miocardio.

Hemos demostrado (19) que en el suero de pacientes con infarto de miocardio se produce un incremento de la actividad PGM total paralelo al incremento que experimenta la actividad CK, pero de menor magnitud. La actividad PGM aumenta después del inicio del dolor precordial, alcanza valores máximos entre las 12-24 horas, y recupera los niveles normales a partir de las 48 horas. Por lo que respecta al patrón isoenzimático de la PGM, analizado mediante electroforesis en acetato de celulosa, nos llamó la atención el hecho de que, en contra de lo que cabría esperar y de lo que sucede en el caso de la CK, en el suero de los individuos sanos sólo se detecta el isoenzima tipo BB. En el suero de los pacientes con infarto de miocardio, con actividad PGM total aumentada, el isoenzima tipo MB aparece en proporción muy baja y el isoenzima tipo MM sólo se detecta en algunos casos y de forma minoritaria (Fig. 1).

Cabía la posibilidad de que los iso-

enzimas MB y MM se inactivaran en el suero como resultado de la oxidación de grupos sulfhidrido, puesto que experimentos realizados "in vitro" habían demostrado que la subunidad tipo M de la PGM posee grupos SH, necesarios para la actividad enzimática, susceptibles de oxidación (2,10). No obstante, el tratamiento de los sueros con DTT permitió descartar esta posibilidad; dado que dicho tratamiento, que reduce los grupos SH oxidados, dió lugar a un incremento pequeño de la actividad PGM total (19).

Otra posibilidad alternativa, sugerida por la existencia en el suero de individuos sanos y de pacientes con infarto de formas inactivas de la PGM con peso molecular inferior al de la enzima nativa (19), es la inactivación de los isoenzimas MB y MM por acción de alguna proteasa sérica. Para caracterizar esta inactivación se han iniciado estudios "in vitro" en los que se incuban



Fig. 1. Isoenzimas de la PGM en tejidos y en suero humano, separados mediante electroforesis en acetato de celulosa.

- | | |
|-------------------------|-----------------------------------|
| 1: músculo esquelético; | 6: pulmón; |
| 2: corazón; | 7: intestino delgado; |
| 3: eritrocitos; | 8: suero normal; |
| 4: hígado; | 9: suero de infarto de miocardio. |
| 5: cerebro; | |

con suero humano extractos tisulares en diversas condiciones. Los resultados obtenidos hasta ahora han confirmado que la incubación con suero da lugar a una inactivación progresiva de la PGM tipo MB y de la PGM tipo MM, sin afectar la PGM tipo BB. El hecho de que la velocidad de dicha inactivación disminuya mucho a temperaturas bajas va en favor del carácter enzimático de la misma; pero a ello se opone el hecho de que el precalentamiento del suero utilizado en la incubación, en condiciones capaces de anular la mayoría de sus actividades enzimáticas, no afecta la acción inactivadora de los isoenzimas de la PGM.

En cualquier caso, el proceso inactivador parece requerir algún catión divalente; puesto que no tiene lugar en presencia de EDTA, capaz de actuar como quelante. Hacen falta experimentos adicionales para aclarar la naturaleza de la inactivación de los isoenzimas MM y MB de la PGM "in vivo". Pero, es evidente que la existencia de esta inactivación permite ya explicar la ausencia de dichos isoenzimas en el suero de individuos sanos y el bajo incremento que de los mismos se observa en el suero de pacientes con infarto de miocardio.

(Trabajo realizado con la ayuda FIS n.º 93/0573).

BIBLIOGRAFÍA

1. Mezquita J, Carreras J. (1981) Phylogeny and ontogeny of the phosphoglycerate mutases-I. Electrophoretic phenotypes of the glycerate-2,3-P₂ dependent phosphoglycerate mutase in vertebrates. *Comp Biochem Physiol* 70B:237-245.
2. Mezquita J, Bartrons R, Pons G, Carreras J. (1981) Phylogeny and ontogeny of the phosphoglycerate mutases-II. Characterization of phosphoglycerate mutase isozymes from vertebrates by their thermal lability and sensitivity to the sulfhydryl group reagents. *Comp Biochem Physiol* 70B:247-255.
3. Carreras J, Bartrons R, Bosch J, Pons G. (1981) Metabolism of glycerate-2,3-P₂-I. Distribution of the enzymes involved in the glycerate-2,3-P₂ metabolism in pig tissues. *Comp Biochem Physiol* 70B:477-485.
4. Pons G, Berrocal F, Tauler A, Carreras J. (1985a) Metabolism of glycerate-2,3-P₂-VII. Enzymes involved in the metabolism of glycerate-2,3-P₂ in cat tissue. *Comp Biochem Physiol* 80B:551-556.
5. Durany N, Carreras J. (1996) Distribution of phosphoglycerate mutase isozymes in rat, rabbit and human tissue. *Comp Biochem Physiol* (in press).

6. Omenn GS, Cheung CY. (1974) Phosphoglycerate mutase isozyme marker for tissue differentiation in man. *Am Hum Genet* 26:393-399.
7. Adamson ED. (1976) Isoenzyme transitions of creatine phosphokinase, aldolase and phosphoglycerate mutase in differentiating mouse cells. *J Embryol exp Morph* 35:355-367.
8. Fundele R, Winking H, Illmensee K, Jägerbauer EM. (1987) Developmental activation of phosphoglycerate mutase-2 in the testis of the mouse. *Dev Biol* 124:562-566.
9. Broceño C, Ruiz P, Reina M, Vilaró S, Pons G. (1995) The muscle-specific phosphoglycerate mutase gene is specifically expressed in testis during spermatogenesis. *Eur J Biochem* 227:629-635.
10. Bartrons R, Carreras J. (1982) Purification and characterization of phosphoglycerate mutase isozymes from pig heart. *Biochim Biophys Acta* 708:167-177.
11. Pons G, Carreras J. (1986) Functional characterization of the enzymes with 2,3-bisphosphoglycerate phosphatase activity from pig skeletal muscle. *Comp Biochem Physiol* 85B:879-885.
12. Castellá J, Montoliu L, Pons G, Puigdomenech P, Cohen-Solal M, Carreras J, Rigau J, Climent F. (1989a) Sequence of rat skeletal muscle phosphoglycerate mutase cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 165:1345-1351.
13. Ureña JM, Graña X, de Lecea L, Ruiz P, Castellá J, Carreras J, Pons G, Climent F. (1992) Isolation and sequencing of a cDNA encoding the B isozyme of rat phosphoglycerate mutase. *Gene* 113:281-282.
14. Castellá-Escalà J, Ojcius DM, LeBoulch P, Joulin V, Blouquit Y, Garel MC, Valentín C, Rosa R, Climent-Romeo F, Cohen-Solal M. (1990b) Isolation and characterization of the gene encoding the muscle-specific isozyme of human phosphoglycerate mutase. *Gene* 91:225-232.
15. Ruiz-Lozano P, Lecea L, Buesa C, Pérez de la Osa P, LePage D, Gualberto A, Walsh K, Pons G. (1994) The gene encoding rat phosphoglycerate mutase subunit M: cloning and promoter analysis in skeletal muscle cells. *Gene* 147:243-248.
16. Andrés V, Cussó R, Carreras J. (1990) Effect of denervation on the distribution and developmental transition of phosphoglycerate mutase and creatine phosphokinase isozymes in rat muscles fiber-type composition. *Differentiation* 43:98-103.
17. Castellá-Escalà J, Ureña J, Alterio J, Carreras J, Martelly I, Climent F. (1990a) Expression of phosphoglycerate mutase mRNA in differentiating rat satellite cell cultures. *FEBS Letters* 268:24-26.
18. Esteller M, Ureña J, Carreras J, Martelly I, Climent F. (1994) Thyroid hormone stimulates phosphoglycerate mutase activity and isozyme transition in rat muscle tissues. *Life Sci* 54:533-538.
19. Durany N, Carballo E, Bartrons R, Joseph J, Bedini JL, Bartrons R, Ballesta AM, Carreras J. (1996) Phosphoglycerate mutase activity and isoenzymes in serum after acute myocardial infarction. *J Clin Molec Pathol* (in press).