

IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LAS POLIAMINAS

(Parte I)

Yáñez A., R. * Ordorica V., M. A. * †
Oriol A., A. ** Mendoza Z., R. *
Montiel M., A. ** Ceballos R., G. M. *
Trujillo F., J. G. * García C., R. **
Ordorica V., J. G. ** Wong R., C. ***

INTRODUCCION

Las poliaminas constituyen una familia de compuestos orgánicos alifáticos nitrogenados de estructura muy relacionada. Aparentemente las más importantes son: *putrescina* (1, 4-diamino-butano); *cadaverina* (1, 5-diaminopentano); *espermidina* N-(3-aminopropil)-1, 4-diaminobutano y *espermina* N,N'-bis(3-aminopropil) 1, 4-diaminobutano. Sin embargo, existen muchos otros compuestos con las mismas características estructurales cuya función aún no se conoce con exactitud. En general, las poliaminas se encuentran distribuidas en todos los seres vivos, se han encontrado en animales, bacterias, levaduras y vegetales, aunque en cantidades variables. Se han realizado muchos estudios sobre estas moléculas y parece que su importancia fisiológica es extraordinaria (Uriel-Bachrach, 1973) ya que existen evidencias experimentales que indican que la biosíntesis de poliaminas está íntimamente relacionada con la

síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Se ha postulado que debido a su carácter policatiónico, las poliaminas regulan la biosíntesis de ácidos nucleicos y, por tanto son las directamente responsables de la biosíntesis de macromoléculas (Tabor y Tabor, 1975). Se ha demostrado experimentalmente que diaminas y poliaminas son indispensables para el crecimiento de microorganismos. También existen evidencias experimentales de que se incrementa la concentración de estos compuestos, así como la actividad de las enzimas que participan en su biosíntesis en aquellos tejidos en los que se ha inducido el crecimiento o diferenciación. Por regla general, estos fenómenos ocurren antes o al mismo tiempo que el incremento en los niveles de DNA, RNA y proteínas.

HISTORIA

Los compuestos aminados siempre se han considerado agentes con una gran actividad fisiológica y por tanto asociados a procesos vitales, por lo que se les denominó en una época "aminas biógenas", aunque también responsables de los procesos de autointoxicación, envejecimiento y muerte como lo indican algunos de sus nombres (leucomainas, ptomainas, cadaverina, putrescina y otros similares).

El nombre de aminas biógenas fue propuesto

* Departamento de Bioquímica y Biofísica y Departamento de Farmacología de la Sección de Graduados de la Escuela Superior de Medicina, IPN. México.

** Departamento de Morfología. Sección de Graduados de la Escuela Superior de Medicina, IPN.

*** Departamento de Bioquímica. Sección de Graduados de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

† Becario de COFAA-IPN.



Fig. 1. Cristales de fosfato de espermina en semen humano. Fotografía tomada con microscopio electrónico Cambridge Stereoscan MarkIIa (aumentos: izquierda, X 50; derecha, X350).

por Gautier, quien fue el primero que describió sus grupos funcionales e intentó clasificarlas de acuerdo a su origen y destino. Otro investigador que contribuyó en forma importante al estudio de las aminas biógenas, fue J. Guggenheim (1920) quien escribió un libro sobre este tema y resultó de gran ayuda para todos los interesados en este campo.

Veinte años después, M. Metalnikov (1940) postuló la teoría de la autointoxicación endodigestiva, según la cual las sustancias con actividad fisiológica casi siempre son aminas, pero una vez realizada su función deben eliminarse del organismo, porque de no hacerlo, al reabsorberse se vuelven tóxicas y responsables del envejecimiento y la muerte. Los vegetales eliminan los compuestos nitrogenados en forma de alcaloides y los animales deben eliminar el nitrógeno por diferentes mecanismos: en forma de urea, ácido úrico, amoniaco o aminas. Esta teoría causó un entusiasmo exagerado pero injustificado entre naturistas y vegetarianos, quienes consideraban que el envejecimiento y la mayor parte de las patologías se debían a la ingestión de alimentos nitrogenados y los motivó para atacar con vehemencia la alimentación a base de carne. Por otro lado, al tratar de evitar la vejez y la muerte, se puso de moda

efectuar intervenciones quirúrgicas para extirpar pedazos de colon porque se suponía que en él se reabsorbían los productos nitrogenados tóxicos. De esta teoría sólo quedaron varios pacientes con colonectomías infectivas y gran número de naturistas y vegetarianos desengañados.

Los compuestos monoaminados como las catecolaminas, histamina, serotonina, GABA y otros, son de gran importancia biológica en forma de hormonas, neurotransmisores y moduladores de la transmisión nerviosa.

Las diaminas y poliaminas constituyen un capítulo diferente, pero también de gran importancia biológica. Su historia se inicia en 1678 cuando Antoni Van Lewenhock (Lewenhock, 1678) observó al microscopio una muestra de semen que dejó reposar a temperatura ambiente por varios días y aparecieron unos diminutos cristales a los que denominó "cristales de espermina" debido a su procedencia. (Fig. 1.)

Estos cristales, que posteriormente se demostró eran fosfato de espermina, fueron redescubiertos por varios investigadores que no conocían los trabajos de Lewenhock. Fue hasta 1888 cuando Landenburg y Abel (Landenburg y Abel, 1888) le asignaron el nombre de espermina. Sin embargo, por error en los análisis,

este compuesto con frecuencia se confundía con la etilenimina o piperacina. Esta concepción errónea de su estructura prevaleció hasta 1924 cuando Wrede (Wrede, 1924) en Alemania y Dudley y Rosenheim (Dudley y Rosenheim, 1927) en Inglaterra lograron su síntesis. A partir de este momento las descripciones son completas, precisas y abundantes. Como consecuencia lógica, muy pronto se descubrió que este compuesto no es exclusivo del esperma, sino que se encuentra en las células de todos los seres vivos, aunque en diferente concentración.

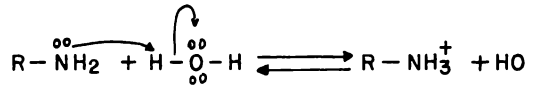
Estos compuestos permanecieron olvidados por muchos años, y el interés por estudiar las funciones de las poliaminas renació cuando Rozansky y Gurevith (1949), en Israel, informaron que el semen humano era capaz de inhibir el crecimiento de varias bacterias y demostraron que el principio activo era la espermina. Aunque este hallazgo no ha tenido trascendencia, motivó que se reiniciara el estudio de estos compuestos.

ESTRUCTURA Y BIOSÍNTESIS DE POLIAMINAS

Estructura. Las poliaminas constituyen un grupo de compuestos orgánicos que se caracterizan por tener varios átomos de nitrógeno trivalente unidos a uno o más átomos de carbono: RNH₂, R₂NH o R₃N. Estas aminas se describen como primarias, secundarias o terciarias, según el número de sustituyentes alquilo o arilo unidos al nitrógeno.

En las aminas el átomo de nitrógeno presenta orbitales sp³, los cuales están orientados hacia los vértices de un tetraedro. Tres de éstos traslapan orbitales "s" de hidrógeno o carbón y el cuarto contiene un par de electrones no compartidos. En consecuencia, las aminas tienen estructura piramidal como el amoníaco y casi los mismo ángulos de valencia.

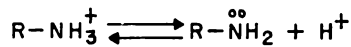
Debido al par de electrones no compartidos en el átomo de nitrógeno, las aminas se comportan como bases de Lewis (donadores de electrones) y exhiben basicidad apreciable, capaz de virar al papel tornasol. La fuerza de las bases se mide por la constante de basicidad o de equilibrio de la reacción:



la cual está dada por la siguiente expresión:

$$K_b = \frac{[R-NH_3^+][HO^-]}{[R-\overset{\cdot\cdot}{N}H_2][H_2O]}$$

y cuya magnitud es aproximadamente de 8.5 x 10⁻⁵. Sin embargo, es más común expresar la fuerza de las bases en términos del pK_a del ácido conjugado



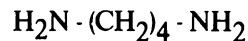
por tanto

$$K_a = \frac{[R-\overset{\cdot\cdot}{N}H_2][H^+]}{[R-NH_3^+]}$$

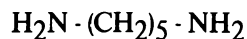
así, una base fuerte (con pK_b bajo) tendrá un valor alto de pK_a, y una base débil (con pK_b alto) tendrá un valor bajo de pK_a.

De esto resulta que al pH fisiológico las poliaminas se comportan como policationes. Propiedad muy importante para su función biológica. Las aminas pueden formar puentes de hidrógeno intermoleculares con el agua, por lo que en general son hidrosolubles; sin embargo, su solubilidad disminuye al aumentar el peso molecular.

Existe una gran variedad de poliaminas, entre las más importantes por su amplia distribución en diversos sistemas biológicos, se encuentran las siguientes:



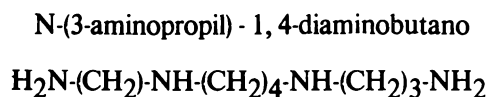
putrescina o
1, 4-diaminobutano



cadaverina o
1, 5-diaminopentano



espermidina o



espermina o



El nombre de estos compuestos se forma según las reglas de la IUPAC; sin embargo, comúnmente se les conoce por el nombre trivial. Así, los compuestos putrescina y cadaverina reciben dichos nombres porque se forman durante la fermentación bacteriana de proteínas, se caracterizan por su olor desagradable. En tanto los nombres de espermina y espermidina se deben a que se descubrieron primero en el semen.

Biosíntesis. El conocimiento de las vías biosintéticas de las poliaminas se ha centrado en la biosíntesis de putrescina, espermidina y esper-

mina. La biosíntesis de putrescina y espermidina se determinó inicialmente en microorganismos, y es muy parecida en células animales.

La purificación de enzimas biosintéticas se ha realizado en diversos sistemas biológicos, principalmente de *E. coli*. El empleo de sustratos marcados con átomos radiactivos (ATP³², ornitina, arginina con C¹⁴ y otros) han permitido confirmar hallazgos básicos y estudiar el mecanismo de biosíntesis en extractos libres de células. En la figura 2 se esquematiza la biosíntesis de putrescina, espermidina y espermina.

Se ha demostrado que los aminoácidos: ornitina, arginina y metionina son precursores en la biosíntesis de espermidina y espermina. De la ornitina o arginina deriva la porción de tetrametilendiamina (C₄), y de metionina deriva la porción de aminopropilica (C₃).

La formación de putrescina en bacterias y en tejidos animales se efectúa principalmente por descarboxilación de la ornitina, por la ornitina

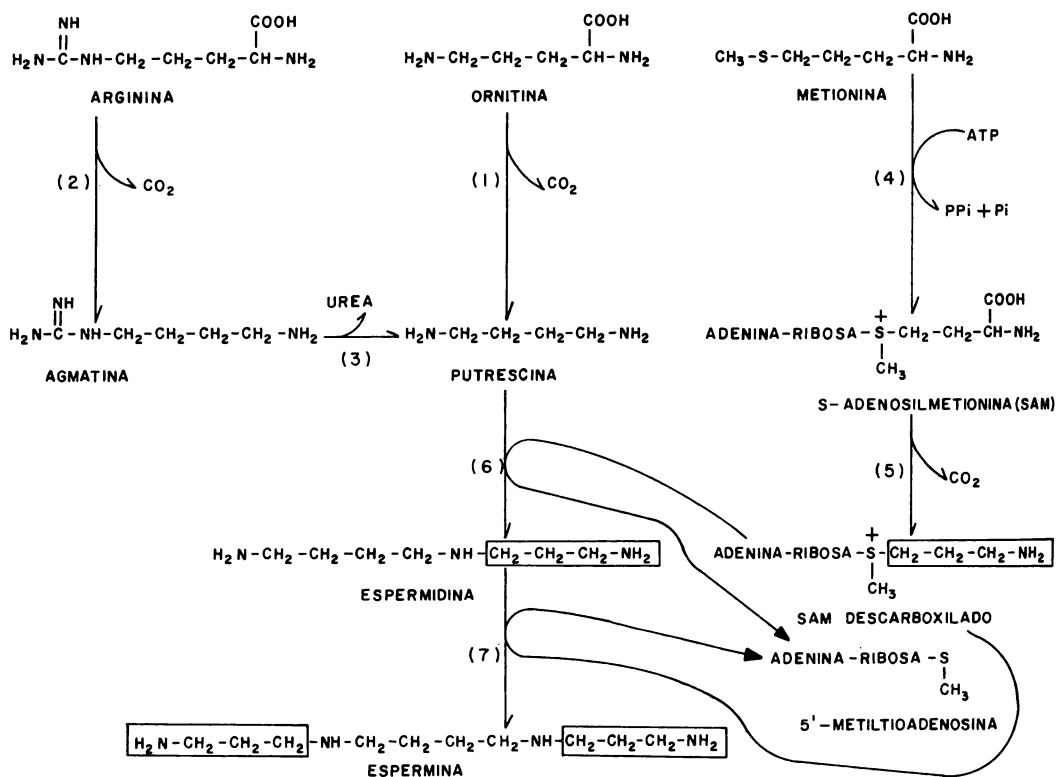


Fig. 2. Biosíntesis de putrescina, espermidina y espermina.

descarboxilasa (reacción 1) que depende de fosfato de piridoxal. Esta enzima presenta una rápida velocidad de renovación en mamíferos y es el paso limitante en la biosíntesis de espermina y espermidina. Otra vía para la formación de putrescina en bacterias, es la descarboxilación de la arginina por la arginina descarboxilasa vía agmatina (reacción 2). Esta descarboxilasa también depende de fosfato de piridoxal. A continuación la agmatina se hidroliza por la agmatina-ureohidrolasa para dar putrescina y urea (reacción 3). La ornitina y arginina descarboxilasa son inhibidas y reprimidas por la putrescina o espermidina.

La putrescina está presente en todas las células y todas son capaces de convertirla en espermidina, y alguna en espermina. Esta síntesis requiere putrescina y S-adenosilmetionina descarboxilasa; la espermina se forma por la acción secuencial de la metionina adenosil transferasa y S-adenosilmetionina descarboxilasa sobre la metionina y S-adenosilmetionina respectivamente (reacciones 4 y 5). La adenosilmetionina descarboxilasa de *E. coli* requiere como cofactores piruvato y Mg^{2+} ; mientras que la enzima de células eucarióticas requiere putrescina o espermidina para su activación y no es estimulada por Mg^{2+} .

Finalmente, la síntesis de espermidina y espermina se logra por una reacción en la que se transfiere un grupo propilamínico de la S-adenosilmetionina descarboxilasa al grupo amino de la putrescina o al grupo amino de la espermidina (reacciones 6 y 7) por una aminopropil transferasa de la que no se conocen cofactores. De tejidos de mamíferos se han purificado parcialmente dos aminopropiltransferasas diferentes, una utiliza como sustrato a la putrescina para formar espermidina, y la otra forma espermina de espermidina.

DISTRIBUCION DE LAS POLIAMINAS

Hamalainen (1941) fue el primer investigador que trató de hacer un estudio analítico cuantitativo sobre la distribución de las poliaminas en diferentes órganos y tejidos humanos. Sin embargo, sus procedimientos basados en la

determinación gravimétrica de los fosfatos o flavinatos de las poliaminas, carecían de sensibilidad, especificidad y exactitud, y sus resultados no siempre estaban de acuerdo cuando se hacían estas determinaciones por otros métodos más precisos. Además, era difícil hacer estudios comparativos de los resultados que aparecían en la literatura, a menos que se especificara la edad y las condiciones fisiológicas del animal. Por otro lado, algunos investigadores acostumbraban dar sus resultados en μ moles/g de tejido húmedo y otros en μ moles/g de tejido seco, cantidades obviamente muy diferentes que originó confusiones graves.

A pesar de que los resultados de Hamalainen eran poco exactos, ya indicaban que la concentración de estos compuestos es muy heterogénea, pues mientras la próstata y médula ósea son ricas en espermina, el músculo y pulmones no contienen espermina en cantidades apreciables. Existen también diferencias de especie, ya que la próstata de rata es rica en espermina y espermidina, mientras que la de perro no (Rosenthal y Tabor, 1956).

Siimes (1968) estudió la distribución de poliaminas en el hombre y encontró los resultados de la tabla 1.

TABLA I

DISTRIBUCION DE POLIAMINAS EN EL HOMBRE (SIIMES, 1968)

| Organo | Concentración (nmoles/mg de proteína) | |
|---------------------|--|-----------|
| | Espermidina | Espermina |
| Glándulas adrenales | 0.68 | 5.44 |
| Cerebro | 9.67 | 2.86 |
| Corazón | 0.11 | 2.05 |
| Riñón | 0.63 | 3.56 |
| Hígado | 1.01 | 5.17 |
| Páncreas | 11.40 | 21.16 |
| Músculo esquelético | 0.10 | 1.40 |
| Bazo | 1.28 | 5.45 |

En los últimos años se ha observado una interesante correlación entre la concentración de poliaminas y ácidos ribonucleicos, en especial en tejidos de crecimiento rápido, como em-

briones de pollo, hígado de rata en regeneración y embriones de rata.

Orina. Desde 1889, Udransky y Baumann observaron que los pacientes con cistinuria eliminaban por orina cadaverina y putrescina. Posteriormente se ha demostrado que la putrescina y cadaverina están presentes aun en la orina normal, aunque en cantidades menores ($0.1 \mu\text{mol}/100 \text{ ml}$). Los niveles de poliaminas son muy superiores en infantes prematuros y en niños con deficiencia de vitamina D. Russell (1971) ha demostrado que la orina de pacientes con diferentes tipos de tumores cancerosos sólidos y leucemia, presenta niveles de poliaminas hasta 50 veces superiores al normal. Si el tumor se extirpa por cirugía los niveles de poliaminas disminuyen a lo normal. Esto se considera que puede servir para diagnosticar en forma cuantitativa la malignidad de los tumores y como un método para medir la eficacia de fármacos antineoplásicos.

Sangre. Rosenthal y Tabor (1956) demostraron que la espermina en la sangre de ratón, rata y hombre está concentrada en los leucocitos y no en el plasma, esto hizo pensar que la sangre de pacientes con leucemia debería tener elevados niveles de espermina y en realidad así es. En 1950, Takuoka propuso un sencillo método para diagnosticar el grado de malignidad del cáncer en pacientes, la prueba fue positiva en el 96% de los casos confirmados y consiste en calentar el suero del paciente con CuCO_3 . La prueba se considera positiva por la aparición de un color violeta debido a la formación de un complejo con el CuCO_3 cuando la espermina está presente a concentraciones de 15 a 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Sin embargo, esta prueba ha sido criticada por Gropper (1957) al demostrar que la reacción no es específica para poliaminas ya que la dan positiva otros compuestos como la creatina, urea, alanina y arginina. Pero a pesar

de que puede ser verdad que muchos resultados positivos fueron falsos, las evidencias experimentales demuestran que los tejidos malignos contienen poliaminas. Lo que aún no está claro es si la presencia de poliaminas en los tejidos cancerosos está relacionada con la presencia de un fosfolípido que contiene espermina, la "malignolipina".

Aunque hasta la fecha no se conoce con exactitud la función de la malignolipina en las células cancerosas, se considera que la putrescina se convierte en espermina, espermidina y malignolipina y que deben desempeñar alguna función en el desarrollo de las células cancerosas. La figura 3 muestra la fórmula de la malignolipina.

Embarazo. La misma prueba que propuso Takuoka para el diagnóstico de cáncer con CuCO_3 se ha propuesto para diagnóstico de embarazo. Morganitini (1956) demostró que la prueba resulta positiva con plasma de vacas grávidas del 30° día en adelante. En la misma forma Russell (1971) ha observado que la orina de mujeres embarazadas contiene elevada concentración de poliaminas.

Sistema nervioso. La existencia de una o varias poliaminas en el sistema nervioso central ha sido descrita por diferentes investigadores. Existe espermina en el cerebro de varias especies. Los estudios realizados por Shimizu (1964) revelan marcadas diferencias en los niveles de poliaminas en la sustancia gris y blanca. El cerebro de prematuros tiene elevada concentración de putrescina y monoacetilputrescina, 403 y 47 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ de tejido húmedo respectivamente, o sea, de 8 a 10 veces la que existe en cerebro de adultos normales. Se ha demostrado que durante el desarrollo del sistema nervioso cambian las concentraciones de poliaminas. También se ha descrito que la actividad de las enzimas que

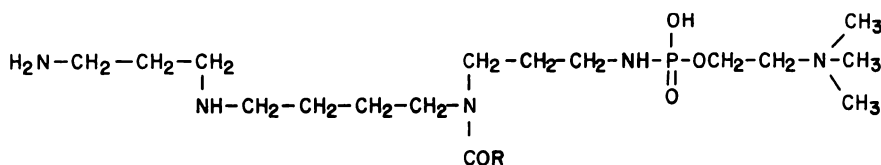


Fig. 3. Malignolipina.

participan en la biosíntesis de poliaminas está incrementada en el caso de tumores cerebrales. También se ha informado por Risetti (1953) la presencia de espermina en el líquido cefalorraquídeo de pacientes epilépticos y en otras alteraciones.

Glándulas sexuales. Como lo indica el nombre, la espermina y la espermidina se descubrieron primero en el líquido seminal. El semen humano normal contiene de 5 a 15 μ moles/ml de espermina, mientras que la espermidina se encuentra en cantidades menores.

Hasta hace unos cuantos años el interés de las poliaminas en el semen estaba orientado a tres aspectos:

- a) la preparación de derivados cristalinos como el picrato de putrescina, para la identificación de semen en medicina forense;
- b) la oxidación de la espermina genera los compuestos responsables del olor característico del semen;
- c) el posible papel en la reproducción al participar en la motilidad de los espermatozoides.

La formación de derivados cristalinos de espermina ya no se usa debido al desarrollo de pruebas más sensibles para detectar la espermina.

El olor del semen está relacionado con la actividad de la diaminoxidasa que oxida a la espermina; la actividad de esta enzima es cien veces más elevada en el semen que en el plasma sanguíneo.

Recientemente, Williams-Ashman (1970), han demostrado el papel de las poliaminas en la fisiología de la reproducción en relación con la actividad de las hormonas y en la estabilización de las membranas biológicas y su interacción con los ácidos nucleicos. Varios investigadores han demostrado que la espermina no afecta la motilidad de los espermatozoides. Sin embargo, la adición de diaminoxidasa al semen produce una marcada disminución de la motilidad, probablemente por productos tóxicos de la oxidación.

Plantas. Se ha demostrado la presencia de putrescina en algas, hongos y muchas especies de plantas superiores. Además de las poliaminas conocidas se han descrito nuevos compuestos relacionados con las poliaminas como la homoespermidina, feruloilputrescina, tetrametilputrescina y otros. (Fig. 4).

Las poliaminas, al igual que el ácido 3-indolacético, estimulan el crecimiento de los vege-

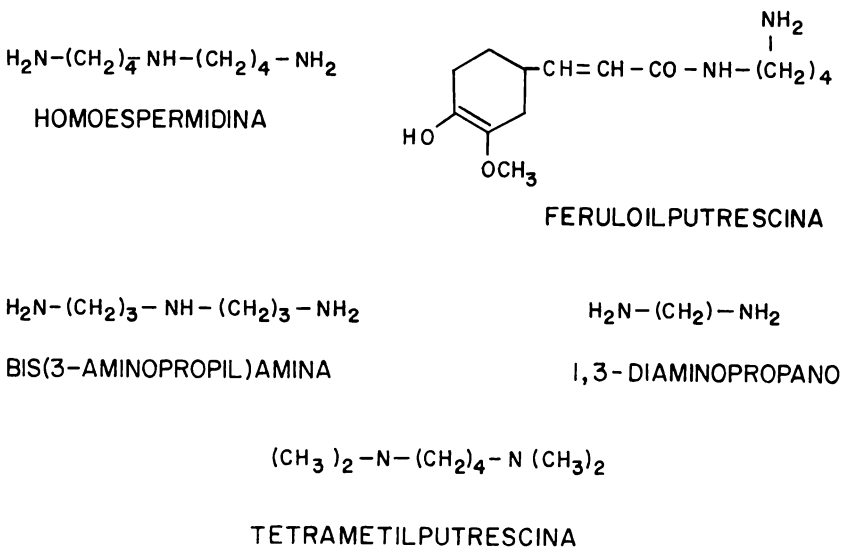


Fig. 4. Poliaminas vegetales.

tales. Cocucci y Bagni (1968) han propuesto que al menos parte del efecto del ácido 3-indolacético depende de la activación que ejerce este compuesto y otras auxinas sobre la biosíntesis de poliaminas.

Microorganismos. Diferentes investigadores han descrito la presencia de putrescina, espermina y espermidina en varios microorganismos utilizando diversas técnicas como cromatografía, electroforesis, intercambio iónico, espectrofotometría, fluorometría y radiometría.

La concentración de poliaminas varía profundamente con el pH, temperatura y condiciones del medio de cultivo, en especial influye la concentración de Mg^{+2} . También influye la edad del medio. Se ha observado una estrecha correlación entre la concentración de poliaminas y la concentración de ácidos nucleicos.

Virus. Fue Hershey (1957) el primero en describir la presencia de putrescina y espermidina en virus bacterianos. El contenido de poliaminas depende de las condiciones del medio de cultivo. El fago T4 contiene de 250 a 134 nmoles de putrescina/ μ mol de fosfato (equivalente a 10^{22} partículas del fago). La espermidina se encuentra en concentraciones más bajas, de 75 a 26 nmoles/ μ mol de fosfato. La concentración total de poliaminas en el fago T4 es de 250 μ moles/g de peso seco y es la concentración más alta de poliaminas observada en cualquier material biológico. Algunos virus de otro tipo presentan concentraciones de poliaminas mucho más bajas y esto se debe a que se ha demostrado que las poliaminas virales pueden ser intercambiadas por otros cationes del medio (Ames, 1958) por lo que el contenido de poliaminas en virus permeables está fuertemente afectado por las condiciones iónicas externas.

Degradación y regulación de los niveles de poliaminas. Los procesos anabólicos, catabólicos y factores que afectan la actividad de ornitina descarboxilasa (ODC), dan como resultado la regulación de los niveles de poliaminas en los diferentes organismos.

La espermina y espermidina son degradadas por una poliamina oxidasa; en microorganismos los enlaces adyacentes al amino secundario son rotos para producir, 1, 4-diamino butano o 1, 3-diamino propano. En vegetales y mamíferos los grupos amino primario de diaminas y polia-

minas son transformados a aminoaldehídos de esta forma, la poliamina oxidasa cataliza la transformación de espermidina a putrescina y 3-amino propionaldehído y la espermina a espermidina y 3-amino propionaldehído. La putrescina se oxida por la diamino oxidasa. En todas las oxidaciones se libera peróxido de hidrógeno. La putrescina puede seguir una vía alterna de transformación catalizada por acetil Co-A. 1, 4-diamino butano N-acetil transferasa, dando como resultado la N-acetil putrescina, importante en el control de actividad de ODC.

Las acetil transferasas se localizan en núcleo y en citoplasma; una de sus principales acciones es disminuir el carácter catiónico de poliaminas, lo cual disminuye su polaridad e interacción con ácidos nucleicos y aumenta su liberación a la circulación y eliminación.

Folk y Williams-Ashman (1979) demostraron la unión covalente de poliaminas a proteínas por acción de la transglutaminasa. Existen transglutaminasas intracelulares y extracelulares.

En plasma de mamíferos se encuentra un zimógeno que en presencia de Ca^{++} y trombina se convierte en enzima activa (factor XIII), que cataliza la incorporación de putrescina, cadaverina, espermidina y espermina entre los monómeros de fibrina laxa para formar enlaces entrecruzados y dar lugar a fibrina compacta.

La transglutaminasa tiene en su sitio activo grupos sulfhidrilo que forman tioésteres con los carbonilos de la glutamina; el grupo amino primario de las poliaminas reacciona con el tioéster dejando la enzima libre y forma el enlace amino correspondiente.

La ODC que regula los niveles de poliaminas se afecta por varios modulares positivos y negativos (Canellakis, 1981). Los adenosín monofosfatos cíclicos (AMPc), acetilespermina, acetilespermidina, inducen la actividad de ODC y aumentan su vida media en células de hepatoma de rata.

A partir de hígado de rata y de *Escherichia coli* se ha purificado la anti enzima de ODC con capacidad para disminuir la actividad de ODC.

La ODC se modifica por la incorporación de putrescina en su molécula por acción de la transglutaminasa (TGasa) (Russell, 1981). Se ha demostrado que se incorporan tres moléculas de putrescina por molécula de ODC, y se produce

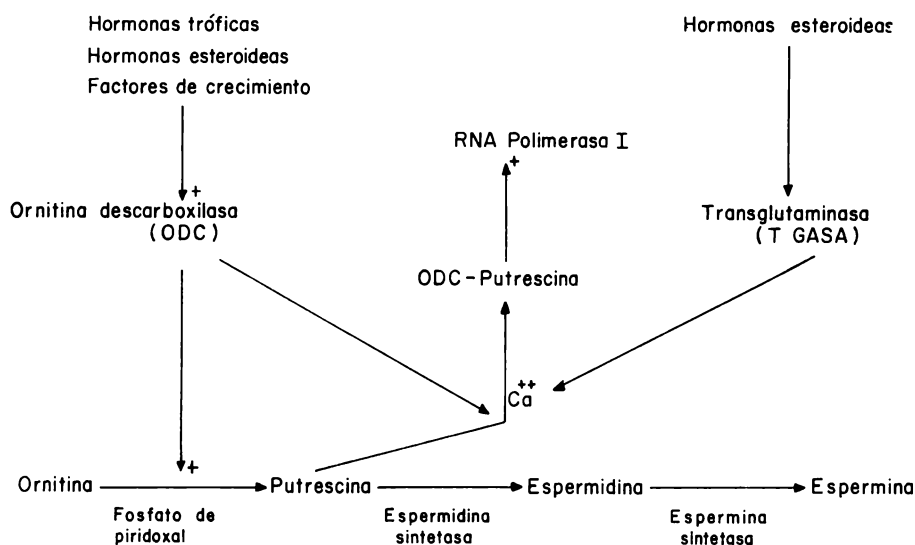


Fig. 5. Modelo de regulación de síntesis de poliaminas y rRNA por control de actividad de T Gasa y ODC. (Tomado de Russell, 1981).

una disminución de su actividad. No existen evidencias experimentales que el conjugado ODC-putrescina sea una forma de metabolizar la diamina como se pensó inicialmente. Si se inhibe la ODC, se inhibe la RNA polimerasa I, la síntesis de rRNA, la transcripción y la síntesis de proteínas.

Se ha observado baja actividad de transglutaminasa en células en proliferación y tumorales (Birckbichler, 1977). La elevada actividad de TGasa en tejido diferenciado, da como resultado una disminución en biosíntesis de poliaminas, aumento de síntesis de rRNA e incremento en síntesis de proteínas (Canellakis Z. N. 1980).

Por lo anterior se podría sugerir el control de la actividad de TGasa y ODC como una estrategia terapéutica en enfermedades que se caracterizan por una elevada proliferación celular. El esquema de la figura 5 representa un modelo de la regulación enzimática de los niveles de poliaminas y síntesis de rRNA.

POLIAMINAS, ACIDOS NUCLEICOS Y PROTEINAS

Es casi seguro que la explicación de las acciones biológicas de las poliaminas se encuentre en sus interacciones con las moléculas y con

el metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas. Estas acciones se pueden sistematizar en:

- 1) interacciones con las moléculas de ácidos nucleicos,
- 2) efecto sobre la síntesis de ácidos nucleicos,
- 3) efectos sobre la síntesis de proteínas.

El efecto sobre la estructura de proteínas, la polimerización de actina y el efecto sobre las enzimas que la sintetizan se discute en otros capítulos de este artículo.

Otras interacciones importantes de las poliaminas se realizan con organelos celulares de los cuales el ribosoma es el más estudiado.

Interacción con ácidos nucleicos. Las poliaminas muestran, *in vitro* gran afinidad por los ácidos nucleicos debido a su estructura policatiónica; como consecuencia, estabilizan las estructuras secundaria y terciaria y los protegen contra la desnaturalización térmica, rompimiento mecánico, hidrólisis enzimática, enzimas metiladoras, daños por irradiación e intercalación de agentes químicos. Se considera que el componente principal de las interacciones es la neutralización de las cargas negativas de los fosfatos de los ácidos nucleicos por las cargas positivas de los grupos amino de las poliaminas, que disminuye la repulsión entre las cadenas paralelas de los ácidos, por lo que las poliaminas tienen afinidad por zonas de doble

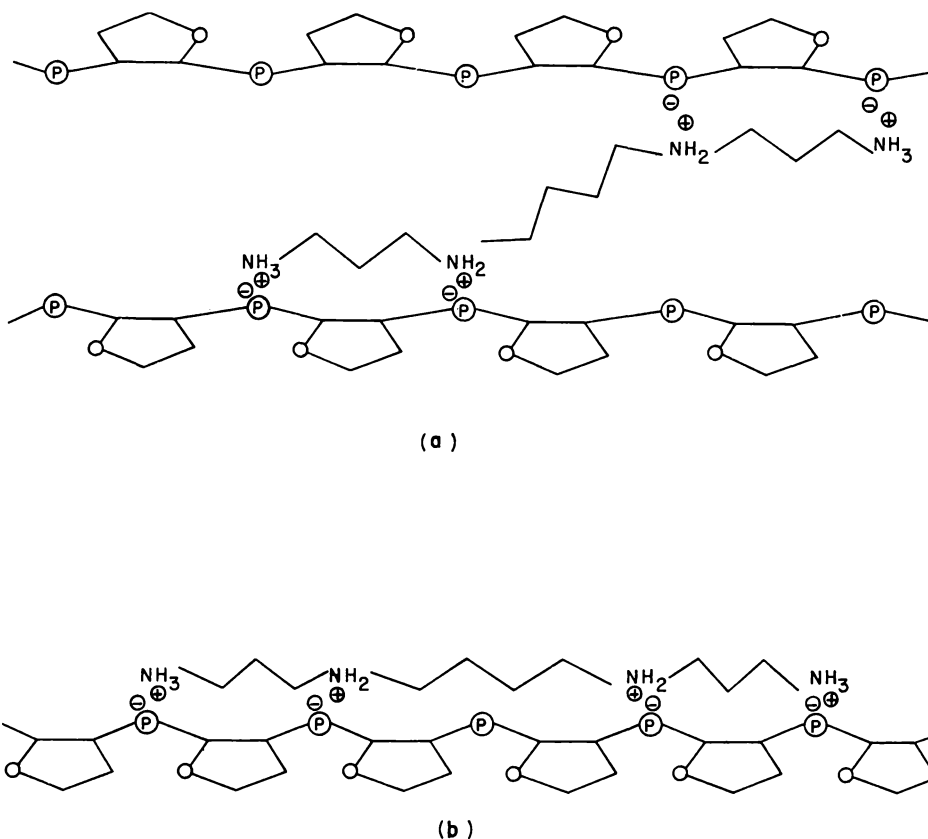


Fig. 6. Ejemplos de interacciones de las poliaminas con el DNA. Se muestran sólo las interacciones de la espermina, las de espermidina serían similares y la putrescina sólo interactúa según el modelo (b).

cadena. Además de interactuar por enlaces electrostáticos, las poliaminas se unen mediante puentes de hidrógeno con grupos polares de las bases nitrogenadas, a veces con agua como intermediario.

Se han elaborado modelos a escala para visualizar la unión de poliaminas con DNA. Utilizando datos de difracción de rayos X de cristales de poliaminas, según los cuales la espermina y espermidina tienen dimensiones adecuadas para formar puentes entre las cadenas del DNA, como se indica en la figura 6 y pueden ser con dos cadenas (a) o sólo con una (b).

En estos estudios de DNA con poliaminas, éstas también forman enlaces por puente de hidrógeno y este tipo de uniones es importante para la conformación de la doble hélice del DNA. Las uniones entre poliaminas y ácidos

nucleicos son fuertes, y en concentraciones altas pueden formar agregados y precipitados. Las poliaminas facilitan la cristalización de ácidos nucleicos e influyen en la forma de los cristales.

La primera evidencia de unión de poliaminas a un DNA natural en condiciones fisiológicas, se obtuvo en el bacteriófago T4 de *Escherichia coli*; en éste y en otros fagos tipo T, las poliaminas constituyen 30 a 50% de los cationes asociados al DNA. Con radioisótopos se ha comprobado que se asocian al DNA y no a las proteínas del virus; no se intercambian con el medio y se inyectan junto con el material genético.

En células procarióticas y eucarióticas las evidencias no son claras. Se ha intentado hacer autorradiografía para determinar la distribu-

ción intracelular de poliaminas, pero la lisis celular que requiere esta técnica provoca la redistribución de todos los cationes intracelulares, por lo que no se puede asegurar que las interacciones detectadas *in vitro*, sean las mismas que *in vivo*.

Las evidencias de que las poliaminas afectan la estructura de ácidos nucleicos *in vivo*, son indirectas. En cepas mutantes de *E. coli*, deficientes en poliaminas, se ha encontrado relación entre los niveles de poliaminas y el superenrollamiento de plásmidos al igual que el DNA de algunos virus que también presentan superenrollamiento por poliaminas, como se demuestra por microscopía electrónica, o sea, que las poliaminas parecen estabilizar la estructura terciaria del DNA. Algo similar ocurre con la estructura del RNA donde moléculas inactivas de RNA de transferencia se activan por poliaminas aparentemente por cambios de conformación. Además, existen evidencias en células neoplásicas de que la falta de poliaminas puede modificar la conformación del DNA mediante un mecanismo que parece no depender sólo de interacciones electrostáticas. También se ha observado que la acción de mutágenos es influida por la presencia de poliaminas.

De mayor importancia es la interacción entre las poliaminas y el DNA "2", que es una doble hélice pero con giro a la izquierda. Esta conformación fue descrita para polímeros sintéticos de desoxiguanosina y desoxicidina alternadas, pero se ha detectado en DNA de virus, insectos y mamíferos, incluso en el hombre, y se cree que regula la actividad del DNA. La formación del DNA "2" requiere concentraciones altas de iones de sodio o magnesio, y las poliaminas favorecen esta conformación a concentraciones salinas fisiológicas. Las poliaminas interactúan mediante enlaces electrostáticos con los fosfatos del ácido nucleico y por puentes de hidrógeno con los grupos amino de la guanina con agua como intermediario.

Biosíntesis de ácidos nucleicos. Las poliaminas afectan la síntesis de ácidos nucleicos de varias maneras que aún no se pueden sistematizar aunque puede afirmarse que tienen un papel importante. Estudios realizados *in vitro* han demostrado que la espermidina aumenta la incorporación de timidina tritiada al DNA,

esto se interpreta como evidencia de que las poliaminas estimulan la síntesis de DNA. Algunos mecanismos propuestos incluyen la activación de la DNA polimerasa, estabilización del DNA molde, o una combinación de éstos. Otros estudios indican que las poliaminas aceleran la síntesis de DNA en presencia de histonas y en ausencia de ellas la inhiben, esto sugiere que el efecto acelerador se deba al desplazamiento de histonas inhibitorias.

Los resultados para la biosíntesis del RNA *in vitro* son igualmente confusos, por un lado concentraciones bajas de poliaminas estimulan la síntesis de RNA por mecanismos similares a los mencionados para el DNA, pero se discute qué es más importante si la activación de la RNA polimerasa o su efecto sobre la estructura del DNA molde. Se ha descrito la capacidad de las poliaminas para evitar la inhibición de la RNA polimerasa por su producto y por otras sustancias, lo que puede ser importante en la activación de la síntesis del RNA. Por otro lado, concentraciones altas de poliaminas, en lugar de estimular, inhiben la síntesis del RNA quizás afectando las estructuras secundaria o terciaria del DNA molde o precipitándolo.

Dos experiencias han aumentado nuestros conocimientos sobre los efectos de las poliaminas en la síntesis de ácidos nucleicos *in vivo* y reafirman su importancia; la primera es el aislamiento de microorganismos incapaces de sintetizar poliaminas y la segunda la síntesis de inhibidores del metabolismo de estos compuestos. Los resultados aún no son concluyentes pero indican al menos que las poliaminas pueden no ser indispensables para la biosíntesis de ácidos nucleicos, pero son necesarias para que dicho proceso se efectúe a velocidad óptima. Cuando mutantes de *E. coli* incapaces de sintetizar poliaminas crecen en un medio carente de éstas, la velocidad de crecimiento es aproximadamente un tercio de la velocidad en presencia de ellas y la síntesis de DNA, RNA y proteínas disminuye en forma proporcional. En cepas de levaduras deficientes en poliaminas se presentan casos notables, un tipo de mutantes carentes de poliaminas porque no puede sintetizar ornitina, cuando crecen en su ausencia tienen un tiempo de duplicación 50% mayor que cuando se cultiva en presencia de ella, y

otras cepas son totalmente dependientes. En ambos casos la velocidad de síntesis de macromoléculas está disminuida.

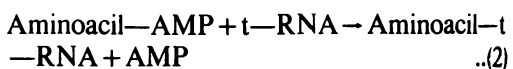
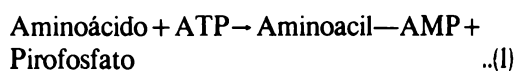
En mutantes de *E. coli* se presenta un hecho interesante, cuando crecen en medio carente de poliaminas, el contenido de DNA por célula es mayor que cuando crecen en condiciones óptimas. Este estudio llevó a la conclusión de que en el DNA la disminución en su velocidad de síntesis se debe a una disminución en la velocidad de crecimiento de las cadenas pero la iniciación de las mismas continúa sin cambio, esto provoca que en una célula se encuentren varias cadenas que crecen al mismo tiempo y con ello una acumulación del DNA al prolongarse el tiempo de duplicación de las bacterias.

La administración de inhibidores de la síntesis de poliaminas ha permitido estudiar el efecto de la carencia de poliaminas sobre la síntesis de ácidos nucleicos *in vivo* en células eucarióticas, por ejemplo la difluorometilornitina, un inhibidor específico e irreversible de la descarboxilasa de ornitina, que si se administra, inhibe la producción de putrescina y espermidina pero la espermina prácticamente no se modifica; lo importante es que esta reducción en la concentración de las poliaminas está relacionada con una reducción de la síntesis de DNA, RNA y proteínas. Es interesante hacer notar que en cultivos de células de hepatoma de rata la replicación del DNA se inhibe sólo después de la primera división celular que sigue a la adición del inhibidor, tal vez porque en las células existe suficiente cantidad de poliaminas para mantener el proceso durante cierto tiempo. Otro dato notable surgido de estos estudios es que esta función la desempeña principalmente la espermidina, pues como ya se mencionó, la espermina casi no sufre variaciones en concentración; además, si se bloquea el paso de putrescina a espermidina también se bloquea la replicación del DNA y las cepas mutantes deficientes de poliaminas crecen normalmente si se añade al medio sólo espermidina.

Biosíntesis de proteínas. El efecto de las poliaminas sobre la biosíntesis se ha establecido tanto *in vitro* como *in vivo*. *In vitro* el patrón de estimulación de la síntesis de proteínas es el mismo que para el RNA, o sea, a bajas concentraciones estimulan la síntesis y a concentra-

ciones altas la inhiben, por esto se consideraba que el efecto era a través de un aumento en la síntesis de RNA mensajero, pero *in vivo* se pudo comprobar que en cepas de *E. coli* deficientes en poliaminas que crecen en medios carentes de ellas, al añadir espermidina se estimula la síntesis de proteínas inmediatamente, sin dar tiempo a que se sinteticen nuevos ácidos nucleicos. Existen varios sitios donde las poliaminas pueden ejercer efectos sobre la síntesis de proteínas *in vivo* pero aún no se puede precisar el más importante.

1. **Activación de los aminoácidos.** Las poliaminas activan la aminoacil-RNA sintetasa, enzima que une los aminoácidos al RNA de transferencia mediante una reacción que se efectúa en dos pasos:



Las poliaminas aumentan la velocidad de la segunda reacción, pero no modifican la velocidad de la primera. Para explicar este efecto existen dos posibilidades, algunos autores consideran que el efecto acelerador de las poliaminas se debe a la estabilización del RNA de transferencia, de ahí que sólo se acelere el paso en que interviene éste; la segunda explicación es que las poliaminas no tengan ningún efecto sino que sea el magnesio el que activa ambas reacciones y las poliaminas aceleran la segunda reacción al desplazar al magnesio que se encuentra normalmente como contaminante de los ácidos nucleicos.

2. **Iniciación.** Los primeros informes del efecto de las poliaminas sobre la síntesis de proteínas indicaban que ésta se aceleraba por aumento en la velocidad de crecimiento de las cadenas de proteínas sin que aumentara la velocidad de iniciación de las mismas, pero se ha establecido que también estimulan este paso pues incrementan la incorporación de formilmetionina, aminoácido marcador del extremo de iniciación

de las cadenas polipeptídicas, tanto en células procarióticas como eucarióticas. Además, se ha descrito la capacidad de la espermina para inhibir la fosforilación de uno de los factores de iniciación de la síntesis de proteínas en eucariotes, dicha fosforilación inactiva al factor. Además de la posible acción sobre los factores de iniciación, las poliaminas también pueden estabilizar el complejo ribosoma-RNA mensajero, y en especial en procariotes el complejo formado por la subunidad 30 S del ribosoma, el RNA mensajero y el aminoácido inicial activado, que es la formilmetionil-t-RNA.

3. *Alargamiento.* Las poliaminas estimulan la incorporación de aminoácidos a las cadenas de proteínas en crecimiento tanto *in vitro* como *in vivo*, se ha intentado explicar esta acción por alguno de los efectos que presentan sobre RNA o ribosomas. Primero, se sabe que las poliaminas facilitan la unión de los aminoácidos activados al complejo de ribosomas y RNA mensajero, quizá por la estabilización de la estructura terciaria del RNA de transferencia; segundo, las poliaminas estabilizan los ribosomas de modo que se obtiene una mejor lectura del RNA mensajero y menor incorporación de aminoácidos equivocados. Por último, se ha descrito la activación por poliaminas de la peptidiltransferasa de ribosomas, lo que aumenta la velocidad de síntesis de enlaces peptídicos y el crecimiento de cadenas polipeptídicas.

4. *Terminación.* La carencia de poliaminas *in vitro* provoca la síntesis de péptidos de bajo peso molecular que se considera son proteínas incompletas y al añadir espermidina se incrementa el rendimiento de péptidos de alto peso molecular. Se supone que las poliaminas pueden evitar la lectura errónea de un codón no terminal como terminal, o bien, estabilizar el RNA mensajero protegiéndolo de la hidrólisis por nucleasas. El aumento en la velocidad de incorporación de aminoácidos antes descrito también puede ayudar a que termine la síntesis antes de que se degrade el RNA mensajero. Otras evidencias señalan que las poliaminas, al afectar la estabilidad de ribosomas, son necesarias en la translocación durante la síntesis, y sin ellas se puede producir la liberación prematura del producto. Cualquiera que sea el sitio de acción de las poliaminas, parece que al igual que para

los ácidos nucleicos, la síntesis de proteínas requiere de poliaminas para alcanzar su velocidad óptima.

POLIAMINAS Y DESARROLLO

Desde hace tiempo, las poliaminas han sido relacionadas con el desarrollo celular y tisular en ambos sentidos, estimulación e inhibición del crecimiento (Russel, 1968 y Tabor, 1976). En lo que a inhibición se refiere, se sabe que la putrescina, espermidina y espermina pueden detener la proliferación de virus y células procarióticas y eucarióticas, desde la replicación de ciertos fagos hasta la proliferación de tumores murinos en cultivo de tejidos, pasando por sus actividades antibacteriana y antimicótica (debidas probablemente a sus propiedades iónicas y la marcada toxicidad renal de la espermina).

Por otro lado, desde 1948 se sabía que las poliaminas putrescina y espermidina estimulan el crecimiento de las colonias de *Hemophilus parainfluenzae*, y hacia finales de la década de los 60 se tenía bien establecida una relación de los aumentos de actividad de ODC, poliaminas y biosíntesis de proteínas con la reproducción celular, para una variedad de modelos de proliferación y diferenciación celular como la regeneración del hígado de rata parcialmente hepatectomizada, el desarrollo del embrión de pollo y el crecimiento de tumores malignos.

Hígado de rata. Cuatro horas después de la hepatectomía parcial se registra un aumento marcado en la actividad de ODC, seguido por elevación de los niveles intracelulares de poliaminas, lo que aparentemente induce una aceleración en la biosíntesis de proteínas y desencadena la reproducción celular. El aumento es temporal y disminuye a la cuarta parte hacia las 48 horas y desaparece prácticamente a las 96.

Embrión de pollo. El huevo embrionado de gallina presenta, entre el quinto y sexto día de incubación, un aumento considerable de actividad de ODC y de concentración de poliaminas, que desaparecen hacia el séptimo día y son indispensables para el desarrollo del embrión.

Tumores. Estaba bien demostrado que el cre-

cimiento en cultivo e *in vivo* de ciertos hepatomas de rata y del sarcoma STAR-1 es precedido por una elevación en el contenido de poliaminas, secundaria al aumento de actividad de ODC. Esto se contrapone aparentemente con los datos de inhibición del crecimiento ejercida por las poliaminas en otros tumores murinos en cultivo de tejidos.

LA ERA DE LOS INHIBIDORES SELECTIVOS

Es claro que había muchos datos sobre la acción biológica de las poliaminas y que algunos eran aparentemente contradictorios. Al intentar una sistematización es necesario recordar que cuando un hígado se regenera o se desarrolla un embrión, en realidad las células se reproducen, crecen y se diferencian simultáneamente. Considerados desde este punto de vista, los modelos usados aclaraban poco acerca del verdadero papel de las poliaminas.

Con el advenimiento de los inhibidores específicos de la ODC, como la α -metilornitina (MO) en 1976 y, sobre todo, la DL- α -difluorometil-ornitina (DFMO) en 1978, fue posible aclarar muchas incógnitas. La MO es un inhibidor competitivo en tanto que la DFMO es del tipo suicida y por tanto irreversible. Añádase a esto su alta especificidad y su baja toxicidad (la-LD50 en ratón y rata pasa de 3 g/kg por vía intraperitoneal y de 5 g/kg por vía oral). En los modelos descritos anteriormente, la inhibición de la ODC por la DFMO se manifiesta como anulación de los picos de concentración de putrescina y espermidina, sin embargo la espermina aumenta, hecho que revela que esta última no está tan íntimamente asociada con los procesos proliferativos (Mamont, 1976 y Fozard, 1980).

Se desarrollaron nuevos modelos para aclarar el papel de las poliaminas, algunos de los cuales se esbozan a continuación.

Reproducción celular. En cuanto al papel en la proliferación celular, se ha demostrado que la DFMO bloquea la reproducción de células HTC (hepatoma de rata) en cultivo, efecto que es revertido por la administración de poliaminas, especialmente putrescina y espermidina. El bloqueo descrito se puede correlacionar con la inhi-

bición de la ODC y la disminución consiguiente de putrescina y espermidina. Por otro lado, en ratón, rata y conejo, hacia el octavo día del desarrollo embrionario se presenta un pico de actividad de ODC y de los niveles de putrescina y espermidina, en tanto que los de espermina permanecen sin cambio (Fozard, 1980); la DFMO evita tales aumentos y produce además incremento de espermina y de actividad de la S-adenosilmetionina descarboxilasa, al tiempo que se detiene el crecimiento de los embriones ya implantados; éstos se reabsorben (Fozard, 1980).

En la rata normal recién nacida, la mucosa intestinal madura en las tres primeras semanas de vida, lo que se manifiesta por reproducción celular acelerada, alargamiento de las criptas y microvellosidades y aparición de actividades enzimáticas específicas como sacaridasas (mal-tasa) y diaminoxidasa (DAO). Esta maduración es retrasada por la DFMO, pudiendo llegar a la inhibición completa, efectos que son coincidentes también con la inhibición de la ODC y la disminución en los niveles de putrescina y espermidina. Además, la DFMO retrasa también la reparación de la mucosa intestinal lesionada por la administración de arabinosilcitosina, lo que no es raro ya que en los animales no tratados con DFMO, al sexto día después de la lesión aumentan la ODC y las poliaminas, excepto la espermina (Luk, 1980).

Por su parte, la terapéutica de las tripanosomiasis se lleva a cabo con productos muy tóxicos hacia los cuales se ha desarrollado ya cierta resistencia, por ello es útil el hallazgo de que la DFMO inhibe la proliferación de *T. brucei brucei* (Bacchi, 1980). Además, se ha demostrado que la DFMO inhibe la replicación del citomegalovirus humano en las células MRC-5, en cultivo, con eficacia muy superior a la arabinosilcitosina, la yododesoxiuridina y el "acyclovir", y con mucho menos toxicidad; esto es importante ya que tales fármacos son de uso clínico común como antivirales, además de que se ha relacionado al citomegalovirus humano con gran cantidad de padecimientos (Tyms, 1982).

Ha quedado así bien establecido el papel importante que tienen las poliaminas en el proceso de reproducción celular a todos niveles.

Diferenciación celular. Para estudiar el papel

de las poliaminas en el proceso de diferenciación, se han empleado células HL-60 en cultivo provenientes de una mujer que murió de leucemia promielocítica. Tales células proliferan bien en cultivo; en los días primero y tercero después de la siembra, presentan sendos picos de actividad de ODC y de poliaminas, cuya inhibición por DFMO bloquea la proliferación. Aun en presencia de DFMO y con la proliferación bloqueada, las células HL-60 pueden ser obligadas a diferenciarse en granulocitos por administración de dimetilsulfoóxido, ácido butírico o ácido retinoico, o en monocitos por adición de ésteres del forbol como el 12-0-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) (Luk, 1982). Que esto se lleve a cabo a pesar de haber detenido la proliferación celular al eliminar los aumentos de ODC y poliaminas con DFMO, obliga a pensar que si bien estos son importantes para la reproducción celular, por lo menos en este modelo no intervienen en el proceso de la diferenciación, que deberá estar guiado por otros mecanismos.

Crecimiento celular. El modelo para este tipo de estudios emplea la célula del músculo cardíaco que crece sin reproducirse (hipertrofia cardíaca; Bartolomé, 1980). Además del crecimiento normal con la edad, el corazón puede hipertrofiarse en forma experimental por administración de fármacos como el isoproterenol y la triyodotironina. Estos crecimientos se relacionan aparentemente con aumentos secundarios en la actividad de ODC y los niveles intracelulares de poliaminas; sin embargo, en estudios de inhibición enzimática con DFMO se ha demostrado que si bien ésta anula dichos aumentos, evita solamente el 50 por ciento de la hipertrofia inducida por isoproterenol (fármaco beta-adrenérgico) sin afectar la provocada por el crecimiento normal o la triyodotironina. No se tiene explicación para este fenómeno, pero es posible afirmar que, por lo menos en el corazón, las poliaminas no parecen ser factores importantes en el crecimiento celular.

EL CASO DE LA ERITROPOYESIS

La intervención de las poliaminas en el tejido hematopoyético había sido poco estudiada a

pesar de ser un tejido que crece y se diferencia de una manera bien predecible. Se sabía que la administración de putrescina y espermidina al conejo induce un aumento en la biosíntesis de hemoglobina y produce reticulocitosis en sangre circulante (Allen, 1962; Rosiek, 1964 y 1968). Estudios posteriores revelaron que la inhibición de la ODC con DFMO provoca un aumento de la hematopoyesis temprana, estableciendo una aparente contradicción con todos los datos previos que hablaban del papel estimulante de las poliaminas sobre la proliferación celular (Niskanen, 1983).

Sin embargo, estudios recientes (Niskanen, 1983; Sharkis, 1983 y Stuart, 1983), han permitido establecer un modelo general tentativo del papel de las poliaminas en la eritropoyesis. En la médula ósea, la célula progenitora eritroide se multiplica y diferencia produciendo las células hemopoyéticas; este proceso se lleva a cabo normalmente a una velocidad modulada en el sentido positivo por unos timocitos llamados cooperadores y en el negativo por otros llamados timocitos supresores. La proliferación de ambas clases de timocitos es requisito indispensable para el ejercicio de su acción. Las poliaminas aceleran la reproducción de ambas poblaciones de timocitos, sólo que el grado de dependencia es mucho mayor para los supresores. Por ello, cuando se inhibe la ODC con DFMO predomina la acción de los auxiliares y produce un aumento neto en el número de células hemopoyéticas.

Por su parte, se ha podido establecer que putrescina, espermidina y espermina evitan la fosforilización del factor de iniciación IF-2 por la proteincinasa PK-380; normalmente, esta fosforilización inhibe la iniciación de la biosíntesis de proteínas en los reticulocitos de conejo, por lo que al evitarla aumenta la biosíntesis de hemoglobina debido a que se incrementa la velocidad de formación del complejo de iniciación, integrado por el RNA de transferencia cargado con formil-metionina, el RNA mensajero para la hemoglobina y la subunidad ribosomal 40S (Kuroda, 1982 y Konecki, 1975).

MECANISMO DE ACCION

En términos generales, se dice que las poliaminas desencadenan la reproducción celular porque hacen que las células pasen de la etapa G₁ del ciclo celular a la etapa S. Esta descripción, aunada a lo detallado antes, obliga a intentar explicar los mecanismos involucrados. A primera vista parecería que falta algo, pues al revisar con más cuidado se descubre que no hay conexión entre lo estímulos que reciben las células y los aumentos en la actividad de ODC, poliaminas y biosíntesis de proteínas necesarios para desencadenar la división celular.

Para llenar este hueco se puede proponer un modelo viable al considerar los hallazgos hechos recientemente en riñón de ratón (Koenig, 1982; Goldstone, 1983 y Nawata, 1980). Se sabe de tiempo atrás que el riñón responde a la testosterona (más probablemente a la DHT) con aumento en la biosíntesis de proteínas y crecimiento global. Este efecto se debe a que algunas horas después del estímulo se presentan aumentos considerables en la actividad de ODC y la concentración de poliaminas.

Recientemente se ha descrito, en la corteza del riñón de hembras de las cepas de ratones A/J y C57-BL/6-COX, que antes de 30 segundos (contados desde la administración intraperitoneal de testosterona) se presenta un aumento de actividad de ODC que alcanza su máximo al minuto, tiene una vida media de aproximadamente otro minuto y ha desaparecido totalmente al cabo de cuatro minutos. Se ha propuesto que este aumento se debe a la activación de la enzima en estado latente en el microdominio subplasmalemal; estado que se podría deber a procesos posteriores a la traducción, posiblemente una fosforilación reversible que involucra a la ODC o alguna pequeña proteína reguladora de la ODC, como podría ser una antizima (Koenig, 1983). De cualquier forma, la rapidez y el tipo de respuesta, así como los requerimientos del experimento, obligan a pensar que en esta respuesta primaria participan de manera fundamental el Ca⁺⁺ extracelular, las prostaglandinas y el AMP cíclico. Por otra parte, las poliaminas producidas se unirían a sitios aniónicos en mitocondria, retículo endoplásmi-

co y membrana, desplazando al Ca⁺⁺ por competencia y abriendo así los canales de Ca⁺⁺ (se cierran por fijación del ión en la cara intracelular del complejo), esto aumentaría el flujo de Ca⁺⁺ hacia el interior de la célula. El aumento neto en la concentración intracelular del Ca⁺⁺ acelera la endocitosis, el transporte de hexosas y aminoácidos y otros procesos dependientes de la concentración de Ca⁺⁺ libre en el citosol o de calmodulina-Ca; entre tales efectos parece encontrarse la inducción de la síntesis de nueva ODC (y otras proteínas) por lo que, después de un periodo de latencia (etapa "lag"), aumentarían nuevamente las poliaminas (tal como se observa en realidad unas horas después del estímulo inicial) produciendo la respuesta a largo plazo: biosíntesis de más proteínas y reproducción celular.

En la eritropoyesis se ha esbozado ya una explicación para el efecto mediato de las poliaminas sobre la biosíntesis de proteínas, la inhibición de la fosforilación del factor de iniciación IF-2 con el consiguiente aumento en la velocidad de formación del complejo de iniciación.

Por otro lado, se ha propuesto recientemente una explicación para la inducción de la división celular por parte de las poliaminas (Niskanen, 1980). La espermina o espermidina inducirían la disposición en paralelo de los filamentos de actina, que al final de la anafase se encuentran como monómeros y microfilamentos aislados, integrándose así el anillo contráctil como resultado de la concentración creciente de poliaminas secundarias a la activación de su biosíntesis en el preciso momento de iniciarse la división celular.

Si bien es cierto que espermina o espermidina inducen la polimerización de la actina, actualmente se piensa que la que es fisiológicamente activa es la espermidina; por otro lado, el aumento en la concentración de Ca⁺⁺ en el citosol puede también explicar, en parte por lo menos, la polimerización mencionada como iniciadora de la reproducción celular.

Este mecanismo de acción, aunque muy especulativo, hace posible sistematizar un poco el cuerpo confuso de conocimientos en este campo y, aunque la explicación a nivel molecular fino requiere aún de mucha investigación, permite entrever un futuro muy promisorio tanto

en conocimientos básicos como aplicaciones clínicas.

RESUMEN

Las poliaminas pertenecen a ese tipo de moléculas ubicuas y trascendentes que durante mucho tiempo quedaron como curiosidades de la química biológica. En su descubrimiento se creyeron producto de la putrefacción y posteriormente se ha demostrado su presencia en la célula viva y su interacción con las biomoléculas, especialmente el DNA. Aunque esta asociación y los eventos posteriores no son bien conocidos, se ha probado su intervención en la reproducción celular, pero con la diferenciación y el crecimiento celulares no ha sido posible llegar a ese punto. En los animales y el hombre el paso limitante de la velocidad de su síntesis es la descarboxilación de la ornitina por acción de la ornitind Descarboxilasa (ODC), enzima que por esa razón se ha convertido en blanco de múltiples intentos de inhibición selectiva e irreversible con el propósito de obtener compuestos útiles en el tratamiento de las enfermedades proliferativas, entre las que destaca el cáncer. En el camino se ha encontrado que estos inhibidores pueden llegar a ser de utilidad en el control de la natalidad y en la lucha contra virus y parásitos, además de herramientas poderosas para estudiar los procesos de reproducción, diferenciación y crecimiento celulares.

SUMMARY

Polyamines are included in that kind of ubiquitous and transcendental molecules regarded as curiosities in biological chemistry for a long time. When discovered they were considered as putrefaction products, then their presence has been demonstrated in all living cells, where they interact with biomolecules, especially DNA. Although not well known, such an association has been proved to enhance cellular reproduction; nevertheless, this has not

yet been accomplished with cellular growth and differentiation.

In animals and man, the rate-limiting enzyme in polyamine biosynthesis is ornithine decarboxylase, so that this enzyme has become a target for selective and irreversible inhibition in order to get useful compounds for the treatment of proliferative diseases, pre-eminently cancer. Such inhibitors have concomitantly proved that they might be useful in birth control, or as antiviral, and antiparasitary drugs, or even as powerful tools for studying cell reproduction, differentiation, and growth.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, E.H. y Schweet, R.S.: "Synthesis of hemoglobin in a cell free system. I. Properties of the complete system"; *J. Bio. Chem.*, **237**: 760-767 (1962).
- Ames, B.N.; Dubin, D.T. y Rosenthal, S.M.: "Presence of polyamines in certain bacterial viruses". *Science*, **127**, 814-816 (1958).
- Bacchi, C.J. y cols.: "Polyamine metabolism: a potential therapeutic target in trypanosomes". *Science*, **210**: 332-334 (1980).
- Bachrach, U.: *Function of Naturally Occurring Polyamines*. Academic Press, Nueva York y Londres (1973).
- Bartolome, J. y cols.: "Role of ornithine decarboxylase in cardiac growth and hypertrophy". *Science*, **210**: 793-794 (1980).
- Birckbichler, P.J., Orr Gr: "Transglutaminase activity in normal and transformed cells". *Cancer Res*, **37**: 1340-1344 (1977).
- Boettcher, A. Virchows. *Arch. path. Anat. Physiol.* **32** 525 (1865).
- Caldera, C.M.; Zappia, V. y Bachrach, U. (Editores). *Advances in Polyamine Research*, Vol. 3, Raven Press, Nueva York (1981).
- Campbell, R.A.; Morris, D.R.; Bartos, D.; Daves, G.D. y Bartos, F. (Editores). *Advances in Polyamine Research*, Vol. 1, Raven Press, Nueva York (1978).
- Canellakis, Es; Viceps-Madore, D.: "The regulation and function of ornithine decarboxylase and of the polyamines". *Curr. Topics Cell. Reg.*, **15**: 155-202 (1979).
- Canellakis, Zn: "Effects of Acetylated polyamines on ornithine decarboxylase in rat HTC cell". *Biochem, Biophys Res Commun.*, **100**: 929-933 (1981).
- Cocucci, S. y Bagni, M.: "Polyamine-Induced activation of protein synthesis in ribosomal preparation from *Helianthus tuberosus* tissue". *Life Sci.*, **7**, 113-120 (1968).
- Dudley, H. W.; Rosenheim, O. y Starling, W. W.: *Biochem. F.*, **20**, 1982, (1926).
- "The constitution and synthesis of spermidine, a newly discovered base isolated from animal tissues". *Biochem. J.* **21**, 97-103 (1927).

- Fessenden, R.J. y Fessenden, J.S.: *Organic Chemistry*, 2a. Ed., Willard Grant Press, Boston, Massachusetts (1982).
- Folk, J. y Park M.H.: *J. Biol. Chem.*, **225**: 3695-3710 (1980).
- Fozard, J.R. y cols.: "L-Ornithine decarboxylase: an essential role in early mammalian embryogenesis", *Science*, **208**: 505-508 (1980).
- Goldstone, A.D. y cols.: "Androgenic stimulation of endocytosis, amino acid and hexose transport in mouse kidney cortex involves increased calcium fluxes". *Biochim. Biophys. Acta*, **762**: 366-371 (1983).
- Gropper, H., Witting, R. y Grimalt, F.: "Kritik an der serologischen Krebsdiagnostik nach Takouka". *Ach. Klin. Exp. Dermatol.*, **206**, 623-628 (1957).
- Guggenheim, A.: "Die biogenen Amine". *Julius Springer*, Berlin (1920).
- Hamalainen, R.: "Uber die quantitative bestimmung des spermins in organismus". *Acta Soc. Med. Doudecim Ser A23*, 97-165 (1941). Citado por Uriel-Bachrach: *Function of Naturally Occurring Polyamines*, Ed Academic Press, Nueva York (1973).
- Hershey, A.D.: "Some minor components of bacteriophage T2 particules". *Virology*, **4**, 237-264 (1957).
- Jane, J.; Poso, H. y Raina, A.: "Polyamines in rapid growth and cancer". *Biochim. Biophys. Acta*, **473**: 241-293 (1978).
- Kapeller-Adler, R.: *Amine Oxidases and Methods for their Study*, p. 122. Wiley, Nueva York (1970).
- Koenig, H. y cols.: "Polyamines regulates calcium fluxes in a rapid plasma membrane response" *Nature*, **305**: 530-534 (1983).
- "Testosterone induces a rapid stimulation of endocytosis, amino acid and hexose transport in mouse kidney cortex". *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **106**: 346-355 (1982).
- Konecki, D. y cols.: "Polyamines are necessary for maximum *in vitro* synthesis of globin peptides and play a role in chain initiation". *Arch. Biochem. Biophys.* **169**: 188-198 (1975).
- Kuroda, Y. y cols.: "Polyamines inhibit the kinase 380-catalyzed phosphorylation of eukaryotic initiation factor 2" *Science*, **215**: 415-416 (1982).
- Ladenburg, A. y Abel, J.: "Uber das Aethylenimin (Spermin) Ber DTCH chem", *Ges.* **21**, 758-766 (1888).
- Lewenhoeck, A.: "Observationes D. Antohonii Lewenhoeck, de Natis e semine genitali animalculis" *Phil Trans R. Soc.* **12**, 1040-43 (1678). Citado por Uriel-Bachrach: *Function of Naturally Occurring Polyamines*. Ed. Academic Press, Inc. Nueva York (1973).
- Luk, G.D. y cols.: "Ornithine decarboxylase is important in intestinal mucosal maturation and recovery from injury in rats". *Science*, **210**: 195-198 (1980).
- "Ornithine decarboxylase: essential in proliferation but not differentiation of human promyelocytic leukemia cells". *Science*, **216**: 75-77 (1982).
- Mamont, P.S. y cols.: "α-Methylornithine a potent competitive inhibitor of ornithine decarboxylase, blocks proliferation of rat hepatoma cells in culture". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**: 1626-1630 (1976).
- Mann, T.: *The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract*. Methuen, Londres (1964).
- Metalnikof, S.: *Lucha contra la muerte*. Ed. Lozada, S.A., Buenos Aires (1940).
- Morgantini, F.: "Presenza di spermina nel siero di sangue di vacca gravida" *Vet. Bull (Weybridge)*, **26**, 101 (1956).
- Morris, D.R. y Fillingame, R.H. *Ann. Rev. Biochem* **43**: 303-325 (1974).
- Nawata, H. y cols.: "Ornithine decarboxylase induction and polyamine levels in the kidney of estradiol-treated castrated male rats". *Life Sciences*, **26**: 689-698 (1980).
- Niskanen, E. y cols.: "Interference of polyamine biosynthesis by DL-alpha-difluoromethylornithine leads to enhanced erythroid stem cell proliferation". *Clin. Res.*, **29**: 864-A (1980).
- "The role of polyamine biosynthesis in hematopoietic precursor cell proliferation in mice". *Blood*, **61**: 740-745 (1983).
- Oriol-Audit, C.: *Eur. J. Biochem.* **87**, 371-376 (1978).
- "Actina: cristalización y acción inductora sobre la división celular"; *Acta Médica*, **XV**, 59-60: 45-50 (1979).
- "The European Meeting on Muscle and Motility, Heidelberg (1979).
- Pegg, A.E.; Lockwood, D.H. y Williams-Ashman, H.G.: *Biochem F.*, **117**: 17 (1970).
- Poehl, A. von: "Die physiologisch-chemischen Grundlagen der Spermintheroie nebst klinischem Material zur Therapeutischen Verwendung des Sperminum Poehl". *Wieneche*, St. Petersburgo (1898).
- Risetti, U. y Mangini, G.: "Detection of spermine in blood serum and cerebrospinal fluid of epileptic patients". *Acta Neurol (Napoli)*, **8**, 911-915 (1953).
- Rosenheim, O.: "The isolation of spermine phosphate from semen and testis". *Biochem. J.*, **18**, 1253-63 (1924).
- Rosenthal, S.M. y Tabor, C.W. "The pharmacology of spermine and spermidine. Distribution and excretion". *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **116**, 131-38 (1956).
- Rosiek, O. y cols.: "Reticulocytosis in rabbits after injection of putrescine"; *Bull. Acad. Pol. Sci. (Biol.)*, **12**: 451-454 (1964). Citado en Bachrach, U.: *Function of naturally Occurring Polyamines*. Academic Press, Inc, Nueva York y Londres, 92 pp. (1973).
- Rosiek, O. y cols.: "Effect of Mg⁺⁺ and spermine on haemoglobin biosynthesis in the cell free system derived from rabbit reticulocytes" *Bull. Acad. Pol. Sci. (Biol.)*, **16**: 479-483 (1968). Citado en Bachrach, U., *op. cit.*, 92 pp.
- Rozansky, R.; Gurevitch, J.; Brzezinsky, A. y Eckerling, B.: "Inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* by human semen". *J. Lab. Clin. Med.*, **34**, 1546-29 (1949).
- Russell, D. y Snyder, S.H.: "Amine synthesis rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo, and varicous tumors"; *Biochemistry*, **60**: 1420, 1427 (1968).
- Russell, D.H.: "Increased polyamine concentrations in the urine of human cancer patients". *Nature* **233**, 144-145 (1971).
- "Posttranslational modification of ornithine decarboxylase by its product putrescine. *Biochem Biophys Res Commun*, **99**: 1167-1172 (1981).

- Schereiner, P.:** *Justus Liebigs Annu. Chem.*, **194**: 68 (1878).
- Sharkis, S. J. y cols.:** "Regulation of hematopoiesis II: the role of polyamine inhibition on helper or suppressor influences of the thymus". *Blood*, **61**: 604-607 (1983).
- Shimizu, H.; Kakimoto, Y. y Sano, T.:** "The determination and distribution of polyamines in mammalian nervous system". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **143**, 199-204 (1964).
- Simes, M.:** "Polyamines in human organs". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **21**, 10 (1968).
- Stenlake, J.B.:** *Foundations of Molecular Pharmacology*, Ed. The Athlone Press, Londres 451-454 1 (1979).
- Stuart, R.K. y Luk, G.D.:** "Polyamine biosynthesis role in murine hematopoietic cell proliferation and differentiation". *Exp. Hematol.* (Lawrence) **11**, (Suppl. 14): 54 (1983).
- Smith, T.A.:** "Fisiología de las Poliaminas". *Endeavocer* New Series vol. 1 Pergamon Press. Oxford (1971).
- Tabor, C.W. y Tabor, H.:** "1, 4-Diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine"; *Annu. Rev. Biochem.*, **45**: 285-305 (1976).
- Tabor, H. y Tabor, C.W. J. Biol. Chem.** **250**, 2648-54 (1975).
- Takuoka, S.:** "Spermine reaction of serum to the diagnosis of cancer". *Acta. Sch. Med. Univ. Kioto*, **27**, 241-246 (1950).
- Tyms, A.S. y Williamson, J.D.:** "Inhibitors of polyamine synthesis block human cytomegalovirus replication". *Nature*, **297**: 690-691 (1982).
- Udranszky, L. von y Baumann, E.:** "Über die Identität des Putrescins und des tetramethyldiamins" *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **21**, 2938-2941 (1888).
- Vauquelin, L.N., Annis Chim.**, **9**: 64 (1791). **Williams-Ashman, H.G. Invest. Urol.**, **2**:605 (1965).
- Williams-Ashman, H.G. y Looockwood, D.H.:** "Role of polyamines in reproductive physiology and sex hormone action" *Ann N. Y. Acad. Sci.* **171**, 882-894 (1970).
- Wrede, F.:** "Zur Kenntnis des spermins III. Hoppe Seylers". *Z. Physiol. Chem.* **138**, 119-135 (1924).
- Wrede, F.; Faselow, H. y Strack, E.:** "Hoppe-Seyler's". *Z. Physiol. Chem.* **161**: 66 (1926).