



19 300627
24
UNIVERSIDAD LA SALLE

**ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.**

**IMPORTANCIA BIOQUIMICA Y CLINICA
DE LAS POLIAMINAS**

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
PRESENTA
MONICA PATRICIA LOPEZ QUIROGA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I INDICE

I	Resumen.....	1
II	Objetivo.....	2
III	Introducción.....	3
IV	Poliaminas y crecimiento.....	7
	1) Crecimiento en tumores.....	7
	2) Tumores y poliaminas en respuesta a la radiación.....	10
V	Niveles extracelulares de poliaminas en pacientes con cáncer diagnosticado.....	12
	1) Poliaminas en orina.....	12
	2) Poliaminas como marcadores de la respuesta a la terapia.....	23
	3) Utilidad relativa de las poliaminas en suero y en plasma comparadas con la orina como marcadores de la enfermedad y de la respuesta a la terapia.....	32
	4) Poliaminas en sangre total, en eritrocitos y en médula como marcadores de enfermedad en respuesta a la terapia.....	32
	5) Utilidad de las concentraciones de poliaminas en el líquido cefalorraquídeo en el análisis de pacientes.....	36
	6) Importancia del análisis de conjugados de poliamina urinaria como marcadores de la enfermedad y de la respuesta a la terapia.....	37
	7) Efectos de la edad, el sexo, la dieta, los ritmos diurnos y mensuales en la excreción de poliaminas.....	37
VI	Poliaminas en otros estados patológicos.....	39
	1) Fibrosis quística.....	39
	2) Psoriasis.....	41
	3) Poliaminas y desórdenes musculares, particularmente la distrofia muscular de Duchenne.....	46
	4) Embarazos normales y complicados.....	48
	5) Desórdenes del crecimiento.....	55
	6) Policitemia vera.....	57
	7) Daño hepático, fallo hepático y fallo renal.....	57
VII	Conclusiones.....	59
VIII	Glosario.....	60
IX	Bibliografía.....	61

I RESUMEN

Las poliaminas, putrescina, espermidina y espermina son marcadores de crecimiento normal y patológico. En algunas enfermedades, las concentraciones elevadas de espermidina en orina reflejan la pérdida celular en tumores y las concentraciones de putrescina en orina se relacionan tanto con el número de células en el ciclo celular como con el factor de pérdida celular en los tumores. Un aumento en la concentración de espermidina mayor al doble en orina a las 72 horas después de la quimioterapia predice una respuesta parcial o completa con un alto grado de exactitud.

Las concentraciones de putrescina en orina pueden ser útiles no sólo para determinar la respuesta temprana a la terapia sino también para determinar si la quimioterapia promueve el desencadenamiento de una proliferación celular.

Las concentraciones de espermidina en los eritrocitos también parecen ser un indicativo de las alteraciones en la cinética de tumores.

Las alteraciones en las poliaminas intra y extracelulares en patologías diferentes al cáncer, como la psoriasis, la distrofia muscular y la fibrosis quística también reflejan con exactitud la actividad de la enfermedad y, en los casos estudiados, la respuesta a la terapia.

La determinación de las concentraciones de poliaminas en fluidos extracelulares y en eritrocitos permite (1) la determinación temprana de la respuesta a la terapia, (2) la determinación de la fase de la enfermedad o del tumor y (3) la determinación de la actividad de la enfermedad, incluyendo el monitoreo a largo plazo de las concentraciones de poliaminas para localizar con precisión la remisión o la recaída en los pacientes.

La información obtenida de las determinaciones de poliaminas podría prolongar el tiempo de supervivencia de los pacientes y podría ayudar a diseñar los regímenes terapéuticos más efectivos para una enfermedad dada.

Debido a que no se cuenta con otros marcadores cinéticos específicos, las poliaminas deben utilizarse clínicamente para rastrear la evolución de tumores y la respuesta del tumor ante la terapia en aquellos pacientes de alto riesgo, en los cuales dichas medidas podrían traducirse en eficacia terapéutica.

II OBJETIVO

Evaluar la confiabilidad de las determinaciones de las concentraciones de poliaminas en fluidos extracelulares como marcadores de ciertas patologías y su posible utilidad en el diagnóstico clínico.

III INTRODUCCION

Muchas de las enfermedades se caracterizan por una disminución o por un aumento de las rutas metabólicas claves. Una de ellas es la biosíntesis de poliaminas (1).

Debido a que las alteraciones en los patrones de acumulación de poliaminas son indicadores de crecimiento, proliferación y diferenciación, no es sorprendente que existan concentraciones extracelulares alteradas en varios desórdenes patológicos (2).

La historia de las poliaminas se remonta a la época de Antoni van Leeuwenhoek, en el año de 1678, a quien se ha dado el crédito no sólo de haber observado por primera vez al espermatozoide humano sino también al descubrimiento de cristales en el semen, que ahora se sabe son cristales de fosfato de espermina (3). Sin embargo, fue hasta 1926 cuando finalmente se determinó su estructura simultáneamente en Alemania e Inglaterra, confirmando por síntesis química.

Por otro lado y ya analizando su función biológica, se demostró que otras poliaminas (putrescina y espermidina) tenían una participación importante en la asociación de subunidades ribosomales de *E. coli* (4), asociándose posteriormente la acumulación con el metabolismo del ARN durante el desarrollo del embrión de pollo (5).

Las poliaminas son compuestos alifáticos de bajo peso molecular que contienen varios grupos amino. Aunque existen muchas sustancias orgánicas que pueden tener estas características, sólo la espermina y la espermidina han sido considerados como tales por su importancia biológica. Sin embargo, se ha incluido a la diamina putrescina dentro de este grupo por la relación que existe en el sistema biosintético de esta serie de compuestos, al igual que la diamina cadaverina por su comportamiento similar (3, 5).

Las diaminas y poliaminas que se encuentran en procariotes y eucariotes son: 1, 3-diaminopropano, 1, 4-diaminobutano (putrescina), 1, 5-diaminopentano (cadaverina), espermina y espermidina (figura 1)(3, 6-10).

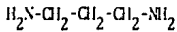
En los mamíferos, incluyendo al hombre, la espermidina y la espermina están presentes en la mayor parte de los tejidos en una concentración aproximada de 1µM, mientras la putrescina está presente generalmente en concentraciones bajas excepto en tejidos que están estimulados al crecimiento o que tienen un compartimiento celular proliferativo como es el caso de la médula (2).

En la figura 2 se representa la ruta metabólica principal

FIGURA 1

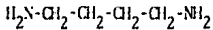
Estructura de la diaminas y poliaminas.

1, 3-DIAMINOPROPANO



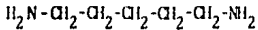
Precursor: Espermidina (en plantas)

1, 4-DIAMINOBUTANO (PUTRESCINA)



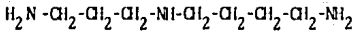
Precursor: Ornitina

1, 5-DIAMINOPENTANO (CADAVERINA)



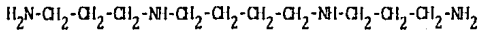
Precursor: Lisina

ESPERMIDINA



Precursor: Putrescina, Adomet

ESPERMINA

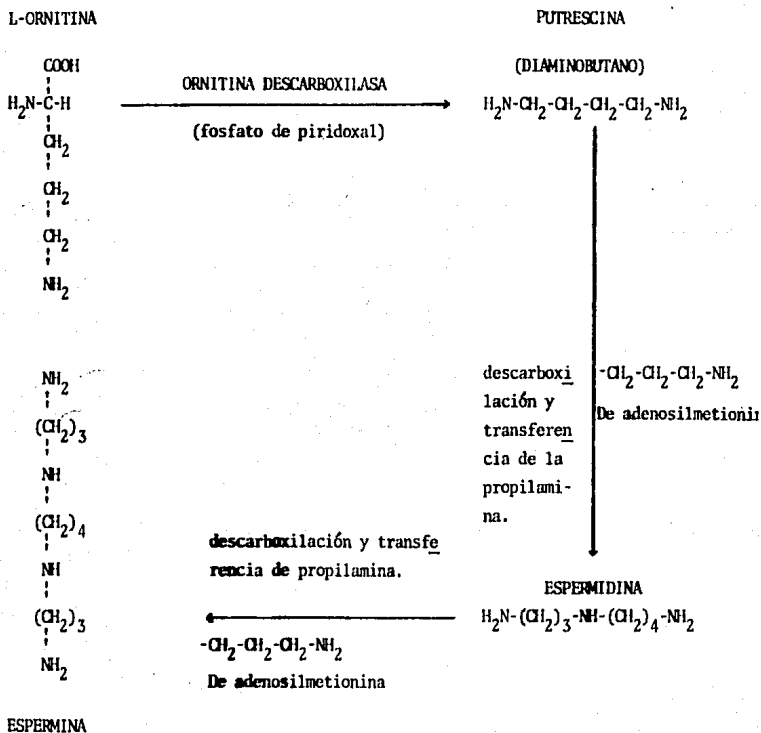


Precursor: Espermidina, Adomet

FIGURA 2

Esquema de la biosíntesis de poliaminas en humanos.

Para una representación más completa de las reacciones de oxidación y de acetilación asociadas con la biosíntesis de poliaminas consultar la referencia 11.



encontrada en la mayor parte de plantas y animales (11).

Los patrones de acumulación de las poliaminas, espermidina y espermina, y de su precursor putrescina, se han determinado durante el crecimiento y diferenciación de células normales y neoplásicas en cultivo y en tejidos de animales (2, 12-14). Una relación espermidina-espermina menor a 1.0 es típica de tejidos con actividad biosintética baja o de tejidos diferenciados con una velocidad constante en la síntesis de ARN y de proteínas. Una relación mayor a 2.0 es típica de un tejido que presenta hipertrofia o hiperplasia. La concentración de espermina es mayor en tejidos diferenciados, disminuye durante los procesos de dediferenciación como en la regeneración del hígado y es constante o aumenta con la edad (2).

Las concentraciones intracelulares de poliaminas, particularmente espermina y putrescina, aumentan dramáticamente con el crecimiento tanto en células normales como neoplásicas (15).

El hecho de que las poliaminas se puedan detectar extracelularmente, ha conducido a la realización de varios trabajos tendientes a cuantificarlas en fluidos biológicos de diversas entidades clínicas (16).

Todos los sistemas "in vivo" e "in vitro" estudiados hasta la fecha, muestran concentraciones incrementadas de poliaminas así como también un aumento de las actividades de las enzimas implicadas en su biosíntesis durante los periodos de proliferación celular (12-14, 17), con tumores que muestran normalmente las concentraciones más altas de poliaminas comparadas con los tejidos normales.

Desde 1971, se reportó la posible relación de las concentraciones de poliaminas en orina con tumores humanos (18). A partir de entonces, se han realizado varios trabajos acerca de las concentraciones elevadas de poliaminas en pacientes con cáncer (19-30). Se ha demostrado también la disminución de dichas concentraciones luego de tratamientos exitosos de varios tipos de cáncer (18, 20-23, 26, 27, 29-31).

De manera similar, se ha demostrado que se encuentran elevadas las concentraciones de poliaminas en suero, orina y líquido cefalorraquídeo en pacientes con neoplasias diversas incluyendo algunos tipos de leucemias, en psoriasis, en fibrosis quística y en otras enfermedades (32).

IV POLIAMINAS Y CRECIMIENTO

(1) Crecimiento en tumores.

El crecimiento rápido de tumores ha sido asociado con una alteración en la biosíntesis y acumulación de poliaminas (33, 34). Este fenómeno ha sido ampliamente estudiado en la leucemia de ratón L1210 (35-39).

Se ha demostrado que en tumores, la inhibición de la acumulación de putrescina y espermidina va paralela a la atenuación de la velocidad de crecimiento de los mismos (35). Cuanto más efectiva es la droga en aumentar el índice de supervivencia, menos efectiva es la acumulación de poliaminas en tumores (tabla 1).

El incremento del tiempo de supervivencia en respuesta a varios agentes antineoplásicos, es concomitante con un decremento en la relación espermidina-espermina (tabla 2) (37).

La inhibición del crecimiento de las células de tumores por la cerbasillquinona disminuye la concentración de espermidina en los eritrocitos hasta alcanzar prácticamente las concentraciones normales (40). Esta observación sugirió que la medición de espermidina en los eritrocitos puede servir como marcador de la progresión en tumores o de la efectividad de la terapia. Sin embargo, otros estudios sobre los perfiles de poliaminas en hepatomas de crecimiento lento indican que las concentraciones de poliaminas en un tejido no pueden ser interpretadas confiablemente sin información acerca de las velocidades de conversión y de de síntesis (15, 41, 42).

También se ha sugerido que las concentraciones aumentadas de poliaminas en orina podrían proveer una herramienta de diagnóstico para evaluar la actividad en tumores (18). Al respecto, Russell et al reportaron en un estudio realizado en pacientes con cáncer (18), que con la extirpación de los tumores, la concentración de poliaminas disminuye, lo que puede indicar que las poliaminas excretadas derivan del tumor mismo.

Se ha postulado que las concentraciones intracelulares de espermidina que aumentan durante el crecimiento tumoral disminuyen por excreción durante la regresión del tumor, sugiriéndose que las concentraciones de espermidina en suero reflejan la muerte de estas células (1). Este concepto se ha reforzado por las mediciones de poliaminas en el fluido intersticial del tumor antes y después de iniciada la regresión. En comparación con los tumores en crecimiento, la concentración de espermidina se incrementó a las 24 y 48 horas después del inicio de la regresión, similar a los aumentos en las concentraciones séricas. A pesar de la variación considerable en las concentraciones de espermidina detectables en el fluido intersticial de los tumores de ratas, en todos los casos la

TABLA 1

Concentraciones de poliaminas en el tumor de ratón L1210 afectadas por drogas (35).

<u>TRATAMIENTO</u>	<u>ALMENTO EN EL TIEMPO DE SUPERVICENCIA</u>	<u>POLIAMINAS (nmol/g)</u>		
		<u>POTRESCINA</u>	<u>ESPERMINA</u>	<u>ESPERMIDINA</u>
CITOSINA				
ARABINOSIDO	110	233	1315	871
NSC 82196	150	151	1019	760
NSC 45388 (DTIC)	200	168	800	518
NINGUNA DROGA	100	345	1518	709

NOTA: Cada valor representa la media de al menos cinco determinaciones. El tiempo de supervivencia se determinó en los controles considerando el número de días que sobrevivió un grupo de 10 ratones después de la inyección.

Tabla 2

Concentraciones de poliaminas en el bazo de ratones con leucemia tratados con varios agentes anticáncer (37).

AGENTE	NSC NO.	DOSIS (mg/kg/día)	TIEMPO DE SUPERVIVEN CIA (d)	DÍA POST INOCULACION	POLIAMINAS (nmol / g peso húmedo)			Pu/Sd ^a	Sd/Sm
					PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA		
<u>RATONES CON LEUCEMIA</u>									
-	-	-	100	6	230	2479	1449	0.093	1.71
Metotrexato	740	2	211	6	101	1272	1095	0.079	1.16
Metotrexato	740	2	232	6	113	1304	1159	0.087	1.13
6-Mercaptopurina	755	30	144	6	113	1256	1111	0.090	1.13
5-Fluorocilo	19893	20	168	6	122	1079	966	0.113	1.12
Citoxan (ciclofosfemida)	26271	45	165	6	109	1079	950	0.101	1.14
5-Fluorocilo desoxiribósido	27640	80	156	6	132	1481	1047	0.089	1.41
Metilglioxal-bis-(guanilhidrazona)	32946	50	170	6	623	2029	1143	0.307	1.78
Vinblastina	49842	0.5	135	6	167	1658	1079	0.101	1.54
Citosina arabinósido	63878	25	189	6	105	1449	1063	0.072	1.36
5-Ascididina	102816	3	297	6	119	1159	1047	0.103	1.11
L-Asparaginasa	109229	15	151	6	203	1674	1304	0.121	1.28
1,3-bis-(2-cloroetil)-1-nitrosourea (BCNU)	409962	5	286	6	147	1626	1191	0.090	1.37
<u>RATONES SIN LEUCEMIA</u>									
-	-	-	-	6	142	1530	1320	0.093	1.16

^a Pu, putrescina, Sd, espermidina, Sm, espermina.

Los ratones hembras BDF₁ fueron inoculados intraperitonealmente en el día 0 con 10^6 células leucémicas L1210 y fueron inyectadas intraperitonealmente en los días 1 al 5 con varios agentes anticáncer. Las concentraciones de poliaminas se determinaron por cromatografía de capa fina después de ser derivatizadas. Cada valor representa la media de al menos 3 determinaciones de un extracto de 5 bazo del día número seis después de la inoculación. En cada experimento, 20 ratones se eligieron al azar en un grupo control para determinar la media del tiempo de supervivencia después de la inoculación del tumor y del tratamiento con droga. La media del tiempo de supervivencia después de la inoculación de 10^6 células leucémicas L1210 se estimó de 8 días.

concentración de espermidina en dicho fluido fue mayor en los animales con tumores en regresión que en los animales con tumores en crecimiento (tabla 3)(43). Esto sugiere que al menos una parte de la espermidina aumentada en suero deriva del tumor mismo mientras éste se encuentra en regresión.

(2) : Tumores y poliaminas extracelulares en respuesta a la radiación.

Se han estudiado los efectos de la radiación en el hepatoma de ratón 3924A (44). En estudios acerca de la respuesta de los hepatomas de rata 3924A hacia la quimioterapia, no se podía establecer si la concentración de espermidina extracelular aumentada podía derivar de tejidos huéspedes o del tejido del tumor mismo. De esta manera, si se estudian los efectos de la radiación local, cualquier aumento en las concentraciones extracelulares de poliaminas podría atribuirse sólo al tumor en sí. De este estudio se concluyó que como la irradiación local fue confinada al tumor, los aumentos en las concentraciones de poliaminas en suero derivaron del tumor sin involucrar otros tejidos.

Se observó que durante las 24 horas del tratamiento de radiación aumentaron las concentraciones de putrescina y de espermidina. Una disminución en la concentración de espermidina del tumor se detectó después de la quimioterapia y se observó un aumento transitorio temprano en la concentración de putrescina, sugiriendo que su síntesis se estimuló en respuesta a la radiación (44).

Algunos estudios efectuados en humanos han indicado que las concentraciones elevadas de putrescina extracelular están relacionadas con el número de células en ciclo celular en el tumor (45-47).

Russell et al observaron que como el aumento de putrescina es posterior al aumento de espermidina y es mayor en aquellos pacientes que no responden a la quimioterapia, la aparición de putrescina en el suero y en la orina de un paciente podría reflejar la reclusión de las células en el compartimiento proliferativo o "fracción de crecimiento" del tumor o de la sédula normal (45).

Las alteraciones en las concentraciones extracelulares e intracelulares de putrescina y espermidina en respuesta a la quimioterapia y a la terapia de radiación, proveen la primera evidencia sólida de que estas poliaminas son marcadores de la cinética en tumores y de la actividad de la enfermedad y no una simple función del tumor en sí mismo como se había propuesto en otros estudios.

TABLA 3

Concentraciones de putrescina (PU), espermidina (SD) y espermina (SM) en el fluido intersticial del tumor mamario MTW9 antes y después de iniciada la regresión (43).

GRUPO	EN CRECIMIENTO			Tiempo después del inicio de la regresión (hr)	EN REGRESION		
	PU	SD	SM		PU	SD	SM
1 (N=4)	2.2 [±] 0.4 ^a	7.1 [±] 1.9	ND ^b	24	3.4 [±] 0.6	9.4 [±] 0.8	ND
2 (N=4)	3.1 [±] 0.2	6.6 [±] 0.7	0.6 [±] 0.6	48	3.1 [±] 0.5	10.8 [±] 1.3 ^c	ND
3 (N=3)	2.8 [±] 0.4	6.7 [±] 0.8	1.1 [±] 0.9	72	2.3 [±] 0.3	7.1 [±] 0.6	0.3 [±] 0.4

^a Media [±] D.E.

^b ND = No determinado

^c Dato diferente al control (tumor en crecimiento); p < 0.05

V NIVELES EXTRACELULARES DE POLIAMINAS EN PACIENTES CON CANCER DIAGNOSTICADO

Los pacientes con tumores sólidos o sanguíneos presentaron elevadas las concentraciones urinarias de putrescina, espermidina y espermina en comparación con sujetos normales ($p < 0.001$) (tabla 4)(46).

En un estudio extenso, Dreyfuss et al (20) compararon la excreción de poliaminas entre enfermedades malignas y no malignas (tabla 5). Analizaron la orina de 24 horas y reportaron que el 78% de los pacientes con cáncer excretaron una cantidad elevada de espermidina. También encontraron espermina elevada en la orina de mujeres con cáncer. Lo anterior fue menos obvio en el caso de los hombres ya que siete de los sujetos control excretaron cantidades elevadas de espermina. Los autores postularon que esta elevación podría ser de origen prostático, ya que el fluido seminal se sabe contiene una concentración alta de espermina. Estos investigadores encontraron también que el 52% de los pacientes con enfermedades malignas excretaron concentraciones elevadas de putrescina, en contraste con un 26% de los pacientes con enfermedades no malignas.

De los pacientes en el grupo control que excretaron concentraciones elevadas de putrescina, la mayoría padecían de enfermedades infecciosas o inflamatorias o estuvieron en procesos regenerativos tales como la recuperación de una anemia megaloblástica o de una pérdida de sangre.

Dreyfuss et al concluyeron que las concentraciones elevadas de las tres poliaminas, putrescina, espermidina y espermina fueron casi exclusivos de pacientes con cáncer (un resultado negativo falso, tabla 5).

Es evidente que en una variedad de tumores sólidos y sanguíneos, la frecuencia de la elevación de poliaminas en fluidos fisiológicos varía del 25 al 100% (48). La frecuencia es del 100% en ciertos estudios de tumores de crecimiento rápido con una alta velocidad de proliferación como en los linfomas de Burkitt (29), y es bajo en pacientes con mielomas en donde muchos se encuentran en fase de meseta que se caracteriza por una quiescencia citocinética con una velocidad de conversión baja (49). Esto lo vemos ilustrado en la figura 3 que muestra las concentraciones de espermidina urinaria en los pacientes citocinéticamente estables (grupo A) y en la inducción activa citocinética y en las fases de recaída del paciente en el mieloma (grupo B) (49).

(1) Poliaminas en orina.

TABLA 4

Niveles de poliaminas en la orina de pacientes con cáncer antes del tratamiento y de sujetos normales (46).

	PUTRESCINA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina)				ESPERMIDINA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina)				ESPERMINA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina)			
	SUJETOS	MEDIA \pm D.E.	MIN. ^a	LIMITES	NO. DE SUJETOS	MEDIA \pm D.E.	MIN.	LIMITES	NO. DE SUJETOS	MEDIA \pm D.E.	MIN.	LIMITES
TUMORES SANGUINEOS	68	4.4 ^c 0.66 ^b	4.2	0.45-38	68	3.7 ^c 0.79 ^b	2.7	0.58-25	62	0.8 ^c 0.32 ^b	1.0	0.25-8.0
TUMORES SOLIDOS	55	3.7 ^c 0.39 ^b	3.8	0.29-10	56	2.7 ^c 54 ^b	1.8	1.09-8.1	56	0.6 ^c 0.28 ^b	0.55	0.12-3.7
NORMALES	16	2.1 ^c 0.62	1.0	0.12-5.5	16	1.2 ^c 0.18	0.8	0.40-2.1	16	0.04 ^c 0.007	0.04	0.02-0.3

NOTA: Las determinaciones se efectuaron mediante la técnica del analizador de aminoácidos con colecciones de orina de 24 horas

^a Mediana

^b Diferencia significativa v.s. los sujetos control ($p < 0.001$)

^c D.E.: Desviación estándar.

TABLA 5

Comparación de la excreción de poliaminas en colecciones de orina por 24 horas en pacientes con enfermedades malignas y no malignas (20).

	NUMERO DE PACIENTES CON	
	Malignas	No malignas
Total de casos	42	54 ^a
Excreción elevada de una poliamina	37 (88%) ^e	24 (44%)
Excreción total de poliamina normal	5	30
Excreción de poliaminas individual ^b		
Putrescina \geq 5 mg	22 (52%)	14 (26%)
Cadaverina ^c		
\geq 5 mg	3	3
\geq 2 mg	7	7
Espermidina \geq 2 mg	33 (78%)	13 (24%) ^d
Espermina \geq 0.5 mg	16 (38%)	7 (13%) ^d
Patrones de excreción de poliaminas		
Putrescina \geq 5 mg + cadaverina \geq 5mg	2	2
Espermidina \geq 2 mg + espermina \geq 0.5 mg	5	4 ^d
Putrescina \geq 5 mg + espermina \geq 0.5 mg	1	0
Putrescina \geq 5 mg + espermidina \geq 2 mg, con o sin otras poliaminas elevadas	19 (45%)	6 (11%)
Putrescina \geq 5 mg + espermidina \geq 2 mg, con excreción normal de espermina	10	5
Putrescina \geq 5 mg + espermidina \geq 2 mg + espermina \geq 0.5 mg	9	1

^a En este grupo 14 pacientes tenían enfermedades infecciosas o inflamatorias, 9 (64%) de los cuales tenían elevada la excreción total de poliaminas. De los 40 pacientes con otras enfermedades no malignas, 15 (37%) tenían elevada la excreción total de poliaminas.

^b Encontrado por separado o combinado con otra excreción elevada de poliaminas.

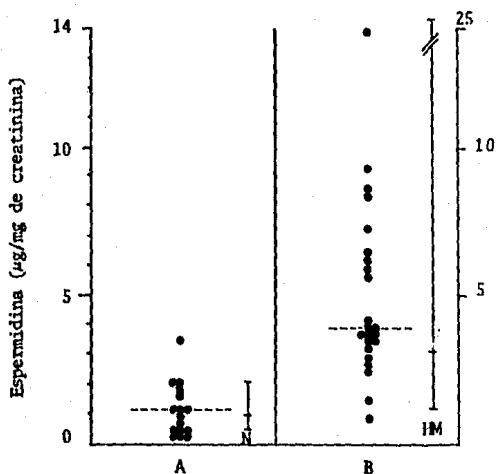
^c Sólo 19 pacientes con enfermedades malignas y 42 con enfermedades no malignas fueron examinados para cadaverina.

^d Todos estos pacientes fueron mujeres.

^e Los porcentajes son del número total de pacientes en cada grupo.

FIGURA 3

Concentraciones de espermidina urinaria en grupos estables (A) e inestables (B). Los valores promedio están indicados por la línea segmentada. Los límites normales con su mediana están representados por la barra vertical N; los límites y mediana de los valores en la enfermedad activa están representados por la barra IM. Para diferencias en los valores entre A y B, $p < 0.01$ (49).



Hay evidencia en la literatura que relaciona las concentraciones de las poliaminas en fluidos fisiológicos con la actividad de la enfermedad en pacientes con cáncer (2, 18, 41, 46-48, 50).

Russell et al en 1971 observaron que las concentraciones excretadas de poliaminas declinan en los pacientes con leucemias durante la remisión (tabla 6)(18).

En todos los casos estudiados se observó que después de la extirpación quirúrgica de una parte del tumor, las concentraciones de poliaminas en orina disminuyeron hasta alcanzar prácticamente las concentraciones normales (tabla 7)(18).

En varios casos de pacientes con leucemia mielocítica aguda, la quimioterapia produjo una disminución en la excreción de poliaminas. Sin embargo, las concentraciones de poliaminas en orina aumentaron primero durante la quimioterapia y luego disminuyeron durante la remisión parcial o completa en los casos estudiados, de acuerdo con las evaluaciones efectuadas en la médula (18). En uno de los casos la excreción de poliaminas aumentaba continuamente a pesar de la quimioterapia y el paciente murió, lo cual demostró la falta de efectividad de la quimioterapia en dicho paciente (tabla 7).

Se observó también que aquellos cánceres con velocidades de conversión y de crecimiento más rápidas se manifestaron con concentraciones más altas de poliamina urinaria, lo cual constituyó otra indicación posible de que las poliaminas surgen del cáncer mismo (18). Como la hipótesis original fue que las poliaminas estarían elevadas en los tejidos de crecimiento y de conversión rápidos, existía la posibilidad de que otros estados patológicos que causan hiperfunción metabólica reflejaran una excreción elevada de poliaminas. De cualquier modo, la consistencia de los acontecimientos sugirió que la excreción de poliaminas puede considerarse un medio de detección para el cáncer (18).

Durie et al (46) en 1977 observaron que las concentraciones de poliaminas están directamente relacionadas con la actividad de la enfermedad y con el tumor en sí mismo.

En los pacientes con mieloma múltiple, las concentraciones de putrescina se correlacionaron significativamente con la actividad de la enfermedad así como con el índice de timidina marcada de las células del plasma medular "in vitro" (46).

El índice de timidina es la proporción de células en una población que incorpora timidina y representa una medida de la actividad proliferativa en los sistemas biológicos ya que la timidina marcada es un precursor específico del ADN. Se sugirió que a la disminución en el índice de timidina, le precede una respuesta clínica, mientras el hecho de que aumente o de que se mantenga constante, se correlaciona con el subsecuente fracaso de la terapia

TABLA 6

Cambios en poliaminas urinarias: leucemia mielocítica aguda. Las concentraciones de poliaminas se determinaron por extracción de las aminas en 1-butanol y separación por electroforesis de alto voltaje (18).

PACIENTE	ESTADO DE LA ENFERMEDAD	POLIAMINAS URINARIAS (mg/24h)		
		POTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA
W. D.	REMISION	< 2.5	5.7	14.0
	RECAIDA	< 2.5	78.0	< 2.5
J. A.	REMISION	< 2.5	< 2.5	< 2.5
	RECAIDA	5.1	12.5	15.4
R. L.	REMISION	< 2.5	11.0	17.0
	RECAIDA	11.3	67.0	103.0
M. R.	REMISION	< 2.5	< 2.5	< 2.5
	RECAIDA	5.2	10.6	10.6

TABLA 7

Cambios en poliaminas urinarias después de la cirugía o terapia con drogas (18).

PACIENTE	ESTADO DE LA ENFERMEDAD	POLIAMINAS URINARIAS (mg/24h)		
		PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA
K.R.	Precirugía	72.0	84.0	64.0
Teratoma ovárico	Postcirugía,			
	Prequimioterapia	10.0	28.0	< 2.5
	Postquimioterapia	< 2.5	5.6	< 2.5
J.H. Tumor cerebral	Precirugía	< 2.5	8.5	14.7
	Postcirugía	< 2.5	< 2.5	< 2.5
C.P. Tumor cerebral	Precirugía	< 2.5	20.3	< 2.5
	Postcirugía	< 2.5	13.7	3.8
C.D. Tumor Testicular	Precirugía	7.8	21.9	32.1
	Después de la orquiectomía	5.4	6.1	5.0
M.R.	Prequimioterapia	5.2	10.6	10.6
Leucemia Mielo cítica aguda	(11/30/70)			
	Prequimioterapia (12/1/70)	4.7	11.7	8.5
	Durante daunomicina (12/20/70)	< 2.5	27.0	48.7
	Durante daunomicina (12/22/70)	< 2.5	36.2	48.2
	Remisión posible (1/7/71)	< 2.5	< 2.5	< 2.5
	Remisión (1/14/71)	< 2.5	< 2.5	< 2.5
A.V. ^a Enfermedad de Hodgkin Etapa IVB	Admisión (11/7/70)	15.8	40.4	44.4
	Durante quimioterapia (11/16/70)	54.0	97.0	102.0
	Durante quimioterapia (11/25/70)	58.0	116.0	237.0
	Terminal (12/2/70)	31.0	101.0	171.0

^aEl paciente empeoró progresivamente hasta que murió.

(24).

Los valores de espermidina en 56 pacientes indicaron que un aumento en la concentración de esta poliamina mayor al doble durante el tratamiento, se correlacionaba con la muerte celular y con la subsecuente respuesta clínica ($p < 0.001$) (46).

Se observó también que las concentraciones de poliaminas en el suero de 17 pacientes eran comparables con los valores encontrados en orina (46). Las concentraciones de putrescina y de espermidina se relacionaron con la enfermedad progresiva mientras que los valores bajos ocurrieron en el mismo estado patológico que es progresivamente lento (tabla 8) (46).

Los estudios longitudinales acerca de las concentraciones de poliaminas serían de gran valor en la determinación del tiempo en que la enfermedad está variando de un estado progresivo lento a un estado progresivo rápido ya que no hay otros marcadores que permitan al clínico determinar de manera rápida las alteraciones en la cinética del tumor. Este tipo de información es importante para determinar el momento del reinicio de la terapia antes de una recaída del paciente (1).

Las concentraciones urinarias de putrescina en función de la remisión o de la recaída del paciente con mieloma múltiple indicaron un aumento de 6 veces el normal en la excreción urinaria de putrescina considerando la recaída v.s. la remisión (tabla 9) (46). Más aún, no se observó traslape de los límites en la excreción de putrescina en la remisión v.s. la recaída.

Nishioka y Romsdahl (51) observaron que las concentraciones de putrescina y espermina en suero estuvieron elevadas como función de la enfermedad recurrente.

Los estudios de las concentraciones de putrescina urinaria en pacientes con mieloma múltiple en función del índice de timidina marcada indicaron una correlación directa entre la fracción de crecimiento aparente del tumor y las concentraciones de putrescina urinaria (figura 4) (2).

Esta observación inicial se amplió subsecuentemente para incluir pacientes con otras enfermedades hematológicas incluyendo a las leucemias mielógenas y a los linfomas. Existe además la capacidad de utilizar la putrescina urinaria como marcador de la cinética del tumor, lo cual sería particularmente valioso en el diseño de los calendarios de la quimioterapia.

Ha habido especulación en cuanto a qué tan importante es el conocimiento de la cinética de tumores en el diseño de la terapia. Los estudios recientes confirman la importancia pronóstica de la información cinética en el pretratamiento (2).

TABLA 8

Valores de poliaminas urinarias y actividad de la enfermedad en cánceres y sólidos y sanguíneos (46).

<u>ENFERMEDAD</u>	<u>NO. DE PACIENTES</u>	<u>CONCENTRACION</u> ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina)	
		<u>PUTRESCINA</u>	<u>ESPERMIDINA</u>
Leucemia mielógena aguda	12	11.4 [±] 6.5 ^a	9.7 [±] 7.1
Leucemia latente	4	3.0 [±] 1.0	1.8 [±] 0.6
Leucemia mielógena crónica			
Fase blasto	2	27.6 [±] 14.6	25.8 [±] 12.5
Fase crónica	4	5.6 [±] 1.7	6.8 [±] 6.5
Sarcomas de tejido diseminado suave			
Progresivo rápido	2	18.0 [±] 9.6	9.9 [±] 2.6
Progresivo lento	4	3.2 [±] 1.0	2.1 [±] 0.7
Carcinoma metastático del colon			
Progresivo rápido	5	12.7 [±] 6.7	8.0 [±] 6.4
Progresivo lento	6	4.0 [±] 1.5	2.1 [±] 1.6

^a Media [±] Desviación Estándar.

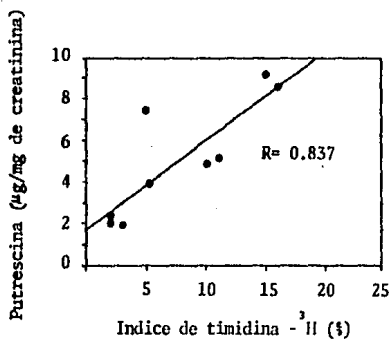
TABLA 9

Concentraciones de putrescina en la orina de pacientes con mieloma múltiple como función de la remisión o del relapso (recaída) (2)..

<u>CONDICION</u>	<u>NUMERO DE PACIENTES</u>	<u>PUTRESCINA URINARIA</u> (μ g/mg de creatinina)	
		<u>MEDIA</u>	<u>LIMITES</u>
Remisión	13	0.97	0.4-1.88
Recaída	20	6.4	2.3-13.21

FIGURA 4

Concentraciones de putrescina en orina de pacientes con mieloma múltiple como función del índice de timidina marcada. Estos pacientes no recibieron quimioterapia durante varias semanas (2).



El índice de marcador en el pretratamiento se correlacionó claramente con la supervivencia en pacientes con mieloma múltiple de masa celular elevada. Además, la cinética del tumor influyó claramente en la respuesta al tratamiento y supervivencia en la fase de la recaída de la enfermedad. Así, la cinética del pretratamiento puede afectar la selección de la droga y puede influir en los intervalos de tiempo en el curso de la terapia (2).

La correlación entre la putrescina y el índice de marcador indicaron que las mediciones de putrescina tendrán el mismo tipo de valor pronóstico (2).

(2) Poliaminas como marcadores de la respuesta a la terapia en cáncer.

La figura 5 representa un modelo de poliaminas como marcadores bioquímicos del crecimiento celular y de la muerte celular del tumor (45).

Russell, Durie y Salmon propusieron el modelo anterior, del cual dedujeron los puntos siguientes:

1.- La concentración de espermidina aumentada en el suero y en la orina de pacientes con cáncer en el pretratamiento comparada con la concentración en individuos normales, probablemente refleja la pérdida celular espontánea del tumor. Esto puede ser importante en el diagnóstico de ciertos tumores para los cuales la pérdida celular espontánea es alta como lo es en varios carcinomas.

2.- Después del inicio de la quimioterapia (o de la terapia de radiación), un aumento mayor al doble en la concentración de espermidina a las 24-48 horas podrá predecir la respuesta parcial o completa del tumor al tratamiento con un alto grado exactitud.

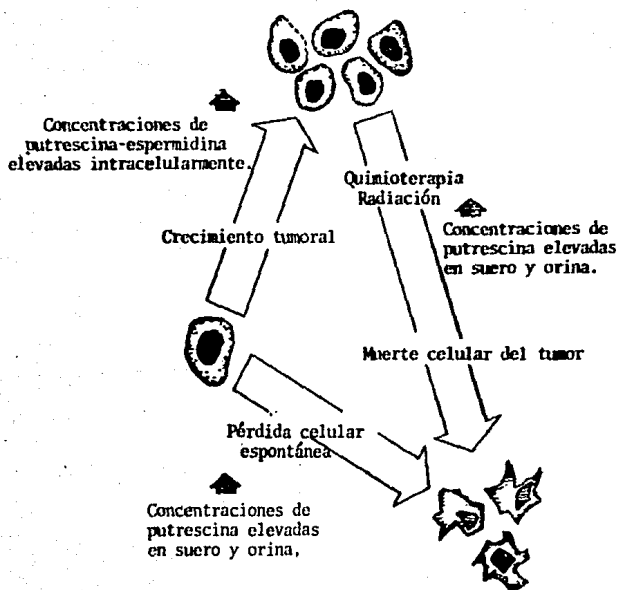
3.- Las concentraciones de putrescina en el suero y en la orina previa quimioterapia reflejan al compartimiento proliferativo del tumor, mientras que las concentraciones de putrescina después de la quimioterapia reflejan la reclusión de las células del tumor en el compartimiento proliferativo así como, posiblemente, la "repopulación" de las células de la médula ósea normal.

4.- Cualquier paciente que recibe quimioterapia y que tiene un incremento en las concentraciones de putrescina en orina y en suero pero no de espermidina, fracasará probablemente en su respuesta a la quimioterapia.

5.- Los pacientes con otras enfermedades diferentes al cáncer que estén asociadas con un factor de pérdida celular espontánea elevada, anticiparon los autores que pueden tener una liberación elevada de espermidina. Tales enfermedades tendrán que ser

FIGURA 5

Modelo de poliaminas como marcadores bioquímicos de crecimiento tumoral y de la muerte celular del tumor (45).



discernibles por técnicas clínicas.

La concentración intracelular y extracelular de putrescina es proporcional al número de células en el ciclo celular y, como consecuencia, a la velocidad de proliferación celular del tumor. La concentración intracelular de espermidina está relacionada con la cantidad de ARN ribosomal en el tumor y además, aumenta esencialmente al doble conforme la célula realiza el ciclo celular. La concentración extracelular de espermidina es proporcional al factor de pérdida celular espontánea del tumor (45).

La figura 6 ilustra el concepto de factor de pérdida celular espontánea del tumor expresada como un patrón de excreción elevada de espermidina antes de la quimioterapia (52).

Se observó que para este paciente con leucemia linfocítica aguda, la excreción de espermidina en términos de $\mu\text{g}/\text{día}$ antes de la quimioterapia fue de aproximadamente 4.2 μg , con una concentración normal de 2.5 $\mu\text{g}/\text{día}$.

La concentración de espermidina urinaria podía predecirse elevada sólo en pacientes que tenían un tumor con un factor de pérdida celular espontánea alto (52).

Steel midió los factores de pérdida celular tan altos como 70 a 80% en algunos tumores (52) e indicó que una respuesta temprana al tratamiento con agentes citostáticos podía depender de la velocidad de pérdida celular. Sugirió más adelante que la inducción de la interrupción mitótica en un tumor con una velocidad alta de pérdida celular natural podía causar una disminución inmediata en el tamaño del tumor; esto se ilustra en la figura 6. A las 48 horas de la iniciación de la quimioterapia se observó un aumento del triple en la concentración urinaria de espermidina concomitante con la disminución de la masa celular del tumor (figura 6). La falta de tumor detectable fue coincidente con un período de remisión en el cual el nivel de excreción urinaria de espermidina estuvo por debajo del normal (52).

Una observación más acerca de este modelo, relacionada con la eficacia de la terapia, fue que la concentración extracelular de espermidina era proporcional a la muerte celular del tumor, y así, un índice confiable del efecto de la terapia. Esto ha sido establecido por varios investigadores en poblaciones importantes de pacientes como una prueba rápida para el fracaso o el éxito de la terapia. La tabla 10 enlista los principales reportes que sugirieron que un aumento significativo de las concentraciones de poliaminas en orina, suero o plasma a las 72 horas de iniciada la terapia se correlacionaba con la subsecuente respuesta clínica.

La tabla 11 resume los resultados de un estudio en serie de 56 pacientes con cáncer, en los cuales un aumento mayor al doble en

FIGURA 6

Espermidina urinaria y número de blasto-células circulantes antes de la quimioterapia, después de la quimioterapia y durante la remisión en un paciente con leucemia linfocítica aguda (52).

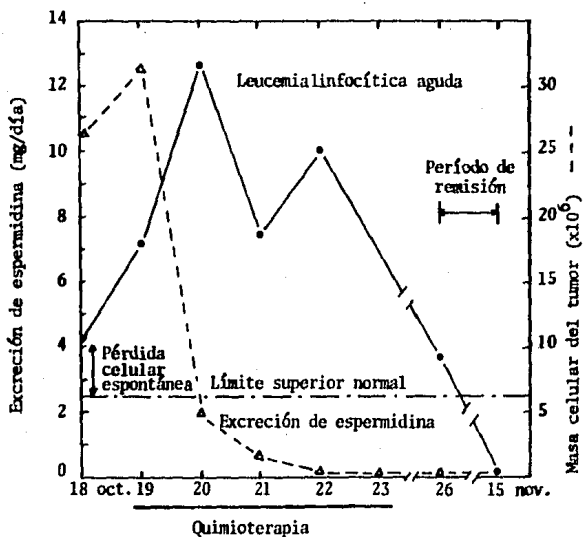


TABLA 10

Estudios que reportan que un aumento significativo en las poliaminas extracelulares en las 72 horas de iniciada la terapia, se correlaciona con una respuesta completa o parcial.

<u>FLUIDO</u>	<u>METODO</u>	<u>NUMERO DE PACIENTES</u>	<u>REFERENCIA</u>
Orina	EAV ^a	2	18
Orina	EAV	7	28
Orina	CII ^b	2	54
Orina	CII	42	45
Orina	CII	7	29
Orina	CII	56	46
Orina	CII	39	48

^a EAV: Electroforesis de alto voltaje.

^b CII: Cromatografía de intercambio iónico.

TABLA 11

Respuesta a la quimioterapia y excreción urinaria de espermidina y de putrescina en 56 pacientes (46).

<u>RESPUESTA</u>	<u>NUMERO DE CASOS</u>	(A) <u>RELACION DE PUTRESCINA POSTRATAMIENTO^a/ PRETRATAMIENTO</u>	(B) <u>RELACION DE ESPERMIDINA POSTRATAMIENTO^a/ PRETRATAMIENTO</u>	<u>RELACION B/A</u>
Ninguna	22	2.7 [±] 3.5 ^b	1.2 [±] 0.5	0.4
Parcial	16	3.0 [±] 3.1	2.7 [±] 2.1 ^c	1.2
Completa	18	2.5 [±] 1.2	3.6 [±] 1.3 ^c	1.4
Combinada, tumores sanguíneos	36	2.6 [±] 2.2	3.0 [±] 2.0 ^d	1.2
Combinada, tumores sólidos	20	2.8 [±] 3.4	2.0 [±] 1.3	1.4

^a El postratamiento indica el valor más alto a las 72 horas del inicio de la terapia.

^b Media [±] Desviación Estándar.

^c Diferencia significativa comparado con los pacientes sin respuesta ($p < 0.0001$).

^d Diferencia significativa comparado con los pacientes con tumores sólidos ($p < 0.005$).

la espermidina urinaria en 72 horas predijo una respuesta parcial o completa a la terapia con un alto grado de exactitud ($p(0.0001)(46)$).

De los 56 pacientes estudiados, 36 presentaron tumores sanguíneos y 20 presentaron tumores sólidos. Cabe hacer notar que cuando no existió respuesta a la quimioterapia, el aumento en la relación postratamiento/pretratamiento de espermidina fue de 1.2.

La concentración de putrescina aumentó después de la quimioterapia pero no se relacionó con la respuesta. De hecho, los pacientes que no respondieron a la quimioterapia tendieron a mostrar aumentos en la concentración de putrescina sin aumentos importantes en espermidina, lo cual concordó con los conceptos derivados de los estudios de tumores experimentales en animales, es decir, las concentraciones intra y extracelulares de putrescina aumentaron conforme las células efectuaban el ciclo celular y la putrescina también se excretaba de la célula durante el proceso de muerte celular en respuesta a la quimioterapia.

En la misma tabla se observa la relación de espermidina postratamiento/pretratamiento sobre la relación putrescina postratamiento-pretratamiento. Los pacientes con respuesta completa tienen un valor de 1.4, los de respuesta parcial 1.2 y los que no tienen respuesta 0.4. Estos datos resaltan la importancia de las alteraciones en la concentración de espermidina extracelular como un marcador de la pérdida celular del tumor y además, de la respuesta a la quimioterapia (46).

La figura 7 muestra las concentraciones promedio de espermidina en tres grupos de pacientes: con respuesta completa, con respuesta parcial y sin respuesta a un curso de quimioterapia combinada (47). Se puede observar lo siguiente: hay un aumento temprano en las concentraciones de espermidina asociadas con las respuesta completa o parcial (2).

Los pacientes con concentraciones bajas de poliaminas en orina y con índices de timidina bajos fueron pacientes con una respuesta pobre a la quimioterapia, mientras los pacientes con enfermedad intermedia o avanzada con índices intermedios o altos, exhibieron pronta respuesta, mostrando aumentos tanto en putrescina como en espermidina (47).

La figura 8 muestra la excreción promedio de putrescina en pacientes con respuesta completa, parcial y sin respuesta a la quimioterapia. Tanto en los pacientes con respuesta completa como en aquellos con respuesta parcial, se observó un aumento temprano en la excreción de putrescina, lo cual sugirió que aquellos pacientes que sí respondieron tenían un número significativo de células del tumor en el ciclo celular; así contenían cantidades considerables de putrescina (53). Los pacientes sin respuesta a la quimioterapia tuvieron una

FIGURA 7

Concentraciones de espermidina en la orina de pacientes con varios regímenes quimioterapéuticos para cáncer. El tiempo cero fue previo a la quimioterapia; el día 1 fue el comienzo de la quimioterapia. Cada punto es la media de 16 a 22 pacientes diferentes sin respuesta a la terapia, como se juzgó por parámetros clínicos posteriores (2).

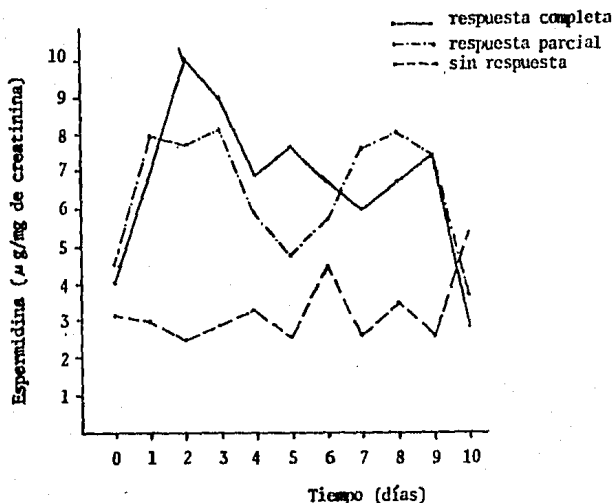
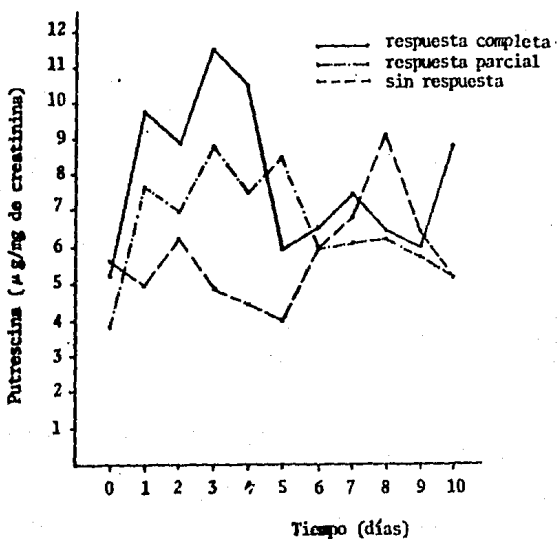


FIGURA 8

Concentración de putrescina en la orina de pacientes con varios regímenes -
quimioterapéuticos para cáncer. El tiempo cero fue previo a la quimioterapia;
el día 1 fue el comienzo de la quimioterapia. Cada punto es la media de 16 a
22 pacientes diferentes sin respuesta, con respuesta parcial o con respuesta-
completa a la terapia, como se juzgó por parámetros clínicos posteriores (53).



respuesta tardía en términos de excreción de putrescina. Este incremento pudo deberse a la reclusión de células en el ciclo celular que se sabe ocurre. Esta excreción ocurriría mientras se atraviesa el ciclo celular y no sería atribuible a la pérdida celular (53).

Milano et al (48) encontraron que las concentraciones de poliaminas en la orina de pacientes con cáncer fueron paralelas a su estado clínico, siendo las concentraciones de putrescina y de espermidina casi normales en la remisión y significativamente elevadas en la evolución del cáncer. En su estudio realizado con 185 pacientes en un período de 5 a 6 meses, encontraron que el valor post-tratamiento espermidina/putrescina separa a los pacientes que responden de los que no responden. El 95% con una relación mayor que 1.25 respondieron al curso de la quimioterapia. Por otro lado, el 80% de los pacientes con una relación por debajo de 1.25 no respondieron al tratamiento.

(3) Utilidad relativa de las poliaminas en suero y en plasma comparadas con la orina como marcadores de la enfermedad y de la respuesta a la terapia.

En un estudio se reportó que no hay diferencias importantes entre los valores simultáneos en el suero y en el plasma de un mismo paciente. Esto sugirió que la coagulación del suero se acompañaba de una pérdida de poliaminas no detectable y que tanto el suero como el plasma podían utilizarse con igual validez (54). Sin embargo, la colección fue mucho más difícil para las muestras de suero que para las de plasma. Si la sangre era extraída de la jeringa muy rápidamente, ocurría una hemólisis amplia que daba como resultado concentraciones elevadas de poliaminas. En la tabla 12 se observa que a las 24 horas del inicio de la quimioterapia, en un paciente con mieloma múltiple hubo un aumento de 5 veces la putrescina urinaria y de 4 veces la espermidina urinaria. Estas alteraciones fueron de mayor magnitud que las detectadas en el suero y en el plasma, particularmente para la putrescina.

De manera general, resultó más fácil utilizar muestras de orina que el utilizar muestras de suero o de plasma debido a la eliminación más rápida de putrescina del suero y del plasma como función de la velocidad de filtración del riñón, así como debido a las concentraciones más altas de poliaminas presentes en la orina en comparación con el suero o el plasma (54).

Las concentraciones urinarias de putrescina también han sido correlacionadas positivamente con el índice de timidina y así, con la proliferación del tumor (2, 49, 53).

(4) Poliaminas en sangre total, en eritrocitos y en médula como marcadores de enfermedad en respuesta a la terapia.

TABLA 12

Concentraciones de pollaminas en muestras de suero y plasma y orina de 24 horas en la recaída de pacientes con mieloma múltiple y con carcinoma embrionario, antes y después de la quimioterapia (54).

	SUERO		PLASMA		ORINA DE 24 H.		
	(mol/l)		(mol/l)		(µg/g creatinina)		
	Pu ^a	Sd	Pu	Sd	Pu	Sd	Sa
MIELOMA MULTIPLE							
Pre-quimioterapia	0730	0.72	0.89	0.70	0.91	3.1	2.4
	1730	0.68	0.81	0.64	0.79		
Quimioterapia ^b							
Día 1	0730	1.20	0.58	1.18	0.55	15.3	11.9
	1730	1.67	1.37	1.65	1.41		
Día 2	0730	1.31	1.21	1.24	1.23	5.1	4.3
	1730	0.80	0.92	0.83	0.90		
Día 3	0730	1.98	1.11	2.00	1.17	11.2	7.3
	1730	1.73	1.18	1.71	1.12		
Día 4	0730	1.62	0.80	1.58	0.77	14.3	5.9
	1730	0.79	0.42	0.83	0.40		
Día 5						21.4	4.4
Después de la quimioterapia							
Día 6						5.9	1.3
CARCINOMA EMBRIONARIO							
Día 1	0730	0.02	0.19			2.6	1.0
	1730	0.02	0.13				
Día 2	0730	0.02	0.14			2.6	1.4
	1730	0.08	0.16			< 2.5	1.3
Día 3	0730	0.08	0.16				0.26
	1730	0.10	0.15			2.4	1.1
Día 4	0730	0.10	0.15				0.39
Día 1	0730	0.13	0.10			5.8	2.0
	1730	0.11	0.25				0.02
Día 2	0730	0.18	0.38			4.5	3.8
	1730	0.15	0.58				0.22
Día 3	0730	0.19	0.42			3.2	4.3
	1730	0.25	0.40				0.34
Día 4	0730	0.34	0.36			< 2.5	4.3
	1730	0.20	0.31				0.52
Día 5	0730	0.41	0.43			1.0	5.0
	1730	0.39	0.43				0.64

^a Pu, putrescina, Sd, espermidina, Sa, espermina.

^b El paciente recibió un régimen de vincristina, citosina arabinósido y prednisona por 5 días. Respuesta clínica buena a la quimioterapia (vuelve a la remisión).

^c El paciente recibió vinblastina y bleomicina por 5 días, con respuesta dramática del tumor.

Terabayashi (55) midió las concentraciones de poliaminas en la sangre de 88 pacientes con tumores cerebrales. En 34 de ellos encontró elevadas las concentraciones de espermidina y de espermina ($p < 0.01$). En 13 pacientes con neuromas y 13 pacientes con meningiomas, no encontró elevaciones significativas de poliaminas en sangre total. Sin embargo, observó una concentración elevada de espermina en el grupo con tumores cerebrales con metástasis.

Takami, Romsdahl y Nishioka (56) estudiaron a las poliaminas en las células sanguíneas y en el plasma en 108 pacientes preoperatorios con tumores sólidos, incluyendo carcinoma de pecho, cáncer colorectal, cáncer del pulmón, melanoma, etc. Los controles fueron 37 individuos sanos de la misma edad que los pacientes aproximadamente. Encontraron aumentadas las concentraciones de poliaminas de las células sanguíneas en un 76.9% comparadas con un 38% de los mismos pacientes con poliaminas elevadas en plasma. En un 89% de los pacientes se encontraron concentraciones aumentadas de al menos una poliamina en las células sanguíneas. Ya que sólo del 10 al 20% de la espermidina y la espermina estaba presente en los leucocitos, fue aparente que la mayor parte de las poliaminas estaban presentes en los eritrocitos (56).

En ratas con hepatomas se observó que las alteraciones en las poliaminas en respuesta a la radiación, sugerían que el contenido de poliaminas en eritrocitos podría reflejar la respuesta a la terapia (57).

Se examinaron las concentraciones de poliaminas en eritrocitos de 52 pacientes con tumores sólidos no tratados (58). Las concentraciones de poliaminas en eritrocitos y en plasma de sujetos control y de los pacientes en este estudio se presentan en la tabla 13 (58). Todas las concentraciones de poliaminas fueron significativamente más altas en los pacientes en comparación con los sujetos control. Sólo las concentraciones de espermidina en plasma son significativamente más altas en los pacientes que en los sujetos control.

Se observó también que, al igual que en los estudios en sangre total, la frecuencia de concentraciones elevadas de putrescina, espermidina y espermina fue significativamente mayor en los eritrocitos que en el plasma (58).

En otros estudios realizados en humanos se ha visto que durante el estado activo de los pacientes con cáncer, se muestran elevadas las concentraciones de poliaminas en los eritrocitos (59), reduciéndose significativamente después de la cirugía exitosa (60).

Los autores han concluido que la determinación de poliaminas en eritrocitos es útil clínicamente como marcador de la actividad de la enfermedad en pacientes con cáncer (60).

TABLA 13

Concentraciones de poliaminas en eritrocitos y en plasma de sujetos control y de pacientes con tumores sólidos (58).

	ERITROCITOS			P L A S M A		
	<u>PUTRESCINA</u>	<u>ESPERMIDINA</u>	<u>ESPERMINA</u>	<u>PUTRESCINA</u>	<u>ESPERMIDINA</u>	<u>ESPERMINA</u>
SUJETOS CONTROL, N = 11	0.166 [±] 0.050	11.76 [±] 1.74	7.21 [±] 2.29	0.108 [±] 0.027	0.129 [±] 0.042	0.038 [±] 0.017
PACIENTES CON TUMORES SOLIDOS N = 52	0.395 [±] 0.267	22.76 [±] 0.97	14.96 [±] 6.62	0.142 [±] 0.085	0.176 [±] 0.083	0.045 [±] 0.025
% DE PACIENTES CON NIVELES ELEVADOS ^a	62.5	64.8	64.7	21.6	29.4	19.9
p ^b	<0.001	<0.001	<0.001	NS	<0.05	NS

^a Más de la media \pm 2 D.E. del control.

^b Prueba T de student entre sujetos control y pacientes.

NOTA: Las concentraciones de poliaminas en eritrocitos están expresados en n mol/ml de eritrocitos, y las concentra-
ciones de poliaminas en plasma están expresados en n mol/ml.

En un estudio en pacientes con carcinoma de la próstata se concluyó que las concentraciones de poliaminas en eritrocitos podía ser útil en el seguimiento a la respuesta de la terapia en dichos pacientes (61).

En pacientes con cáncer de la cabeza y el cuello, se observaron elevadas las concentraciones de espermidina y/o espermina en eritrocitos (62). El grado de elevación se correlacionó clínicamente con la extensión del crecimiento del tumor y con la ausencia o presencia de terapia. Los autores concluyeron que la medición de la concentración de espermidina en los eritrocitos ofrece un marcador sencillo y efectivo de la respuesta a la terapia.

Ya que del 70 al 90% de las poliaminas en la sangre estaban asociadas con los eritrocitos, parecía que las determinaciones de poliaminas en estos pacientes reflejarían más exactamente la actividad de la enfermedad y la respuesta a la terapia comparadas con las concentraciones encontradas en suero, plasma y leucocitos (56, 58, 63).

Los estudios de las concentraciones de poliaminas en la médula y en el plasma medular de niños y adultos con leucemia sugirieron también que las concentraciones de poliaminas podían ser utilizadas como marcadores de la actividad de la enfermedad (64-67).

(5) Utilidad de las concentraciones de poliaminas en el líquido cefalorraquídeo en el análisis de pacientes.

Las concentraciones de poliaminas en el líquido cefalorraquídeo también han sido evaluadas en relación con el diagnóstico de la enfermedad y con la recurrencia de tumores (67-72).

Aunque se ha visto que los pacientes con glioblastomas, meduloblastomas y astrocitomas tenían elevadas las concentraciones de poliaminas en el líquido cefalorraquídeo, los estudios revelaron muchos resultados positivos falsos y negativos falsos.

Debido a que las concentraciones de poliaminas presentes en el líquido cefalorraquídeo son frecuentemente bajas, comparadas con las encontrados en orina y en eritrocitos, no es sorprendente la baja utilidad de su determinación.

Se ha visto que existe una correlación entre el estado del paciente y las concentraciones elevadas de putrescina en el líquido cefalorraquídeo en pacientes con meduloblastomas. De igual modo, un aumento en la concentración de putrescina en el líquido cefalorraquídeo fue frecuentemente un marcador de la recurrencia en tumores.

Por las razones anteriores, los autores sugirieron que la determinación rutinaria de poliaminas en el líquido cefaloraquídeo es eficaz en el análisis de pacientes con meduloblastomas (67-72).

(6) Importancia del análisis de conjugados de poliamina urinaria como marcadores de la enfermedad y de la respuesta a la terapia.

La mayor parte de los conjugados de poliaminas han sido identificados como derivados acetilados de poliamina (73-81).

Los derivados gama-glutamil de poliaminas han sido identificados intracelularmente y en el semen (82-84). Sin embargo, no se han identificado en orina.

En el hidrolizado de orina se han identificado metabolitos aminoácidos de espermidina, putreanina (85, 86) y de ácido N(3-aminopropil)-4-aminobutírico (86) pero ninguno de ellos se ha estudiado en detalle como marcador potencial de enfermedad.

Se ha sugerido cuantificar los derivados isoméricos de la mono-acetileespermidina que podrían proveer más información relacionada con la enfermedad y con la respuesta a la terapia (76).

Debe aclararse que se requiere realizar estudios extensos de los derivados de las acetilpoliaminas intra y extracelulares para establecer si existen funciones específicas para los isómeros de espermidina en relación con la patología (1).

Se ha demostrado que la excreción elevada de acetilpoliaminas no muestra ser un marcador confiable para la presencia de tumores según un estudio en el que se observó que, a pesar de la formación de tumores de mama en ratas, no aumentó la excreción de acetilpoliaminas (79).

Seller y colaboradores sugirieron que la excreción intensa de acetileespermidina es un mecanismo para disminuir las concentraciones intracelulares de poliaminas (79).

(7) Efectos de la edad, el sexo, la dieta, los ritmos diurnos y mensuales en la excreción de poliaminas.

Se observaron variaciones en las concentraciones extracelulares y en tejidos de animales relacionados con la edad (87, 88). Sin embargo, en análisis de tejido humano de adultos jóvenes y de niños, no se encontraron diferencias importantes debidas a la edad o al sexo (89).

Waalkes et al reportaron que los niños excretaron concentraciones de poliaminas mayores que los adultos en base al peso. Los mismos investigadores reportaron que las mujeres excretaron una cantidad de putrescina mayor que los hombres, y que la concentración promedio de putrescina disminuía con la edad en las mujeres. También reportaron que los hombres excretaron más espermina que las mujeres. Los valores promedio encontrados para la excreción de espermidina fueron esencialmente los mismos tanto en hombres como en mujeres (30).

Estos autores determinaron también los efectos de la dieta sobre la concentración de poliaminas en orina y no notaron diferencias en la concentración de poliaminas en orina de pacientes con una dieta baja en purina comparada con una dieta regular con porciones de carne adicionadas durante tres días (30).

Halberg et al reportaron la existencia de un ritmo circadiano estadísticamente significativo para la excreción de cadaverina, putrescina y espermina en ratas inculadas con inunocitomas (90, 91).

Se ha observado que en las mujeres la relación espermidina/espermina está en función de la fase del ciclo menstrual (92), siendo mayor la excreción de poliaminas durante la menstruación (93).

Las fluctuaciones en las concentraciones de poliaminas intra y extracelulares se reportaron en otras patologías diferentes al cáncer la mayoría de las cuales se caracterizan por factores de pérdida celular aumentados y/o por componentes de proliferación aumentados. Los principales reportes acerca del metabolismo anormal de las poliaminas se han efectuado en pacientes con fibrosis quística, en la distrofia muscular y en la psoriasis.

El metabolismo de las poliaminas también se estudió en el fluido amniótico y en la orina de mujeres durante el embarazo normal y en casos de riesgo de la madre relacionado con el factor Rh, la diabetes, etc.

Un crecimiento anormal se refleja en parámetros cinéticos celulares alterados, y de nuevo, la actividad de la enfermedad puede investigarse en relación a los aumentos en las concentraciones de las poliaminas en los fluidos fisiológicos, particularmente en la orina (1).

(1) Fibrosis quística

La fibrosis quística es un desorden genético autosomal recesivo de los caucásicos aunque el defecto genético primario se desconoce. La enfermedad afecta a los niños y sus síntomas principales son la disfunción pancreática y la enfermedad pulmonar crónica.

Los estudios de las concentraciones de poliaminas en pacientes con fibrosis quística comparados con sus hermanos gemelos, indicaron que los niños con dicho padecimiento presentaron más elevadas las concentraciones de poliaminas (tabla 14)(94).

En otros pacientes con enfermedades pulmonares, como el asma y la fibrosis de pulmón severa, la excreción de poliaminas en orina no fue significativamente diferente a la excreción de poliaminas encontrada en sujetos normales.

Los estudios sobre la eliminación de la espermidina de la sangre de sujetos normales y de pacientes con fibrosis quística, luego de la administración de un marcador de espermidina-¹⁴C indicaron una eliminación de espermidina del plasma más rápida en los pacientes con fibrosis quística.

La elevación en las concentraciones de espermina que excretaron los pacientes con fibrosis quística en comparación con las de sujetos normales puede relacionarse con las concentraciones altas de espermidina de los tejidos diferenciados tales como las glándulas exocrinas y podrían reflejar la destrucción de tejido de las células

TABLA 14

Poliaminas en orina de pacientes con fibrosis quística, en heterocigotos obligados, en pacientes con otras enfermedades pulmonares y en voluntarios normales de la misma edad (94).

VALORES PROMEDIO	MACHO/HEMBRA	EDAD PROMEDIO	POLIAMINAS EN ORINA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina)		
			PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA
NORMALES	3/3	25	2.73 [±] 0.59	1.56 [±] 0.42	0.06 [±] 0.01
HETEROCIGOTOS	5/3	30	3.04 [±] 0.90	1.80 [±] 0.34	0.17 [±] 0.09
NORMALES	4/1	7	2.09 [±] 0.57	1.79 [±] 0.49	1.14 [±] 0.08
ASMAICOS/ ENFERMEDAD PULMONAR SEVERA	3/2	7	2.45 [±] 0.65	2.07 [±] 0.51	0.22 [±] 0.15
FIBROSIS QUISTICA	4/3	8	9.80 [±] 1.40 ^a	4.00 [±] 0.45 ^a	1.81 [±] 0.33 ^a

^a La información difiere de los normales de la misma edad, heterocigotos y pacientes con otras enfermedades pulmonares ($p < 0.0001$).

glandulares (2, 47).

La concentración de espermina en la orina se correlacionó con el grado de la enfermedad, mientras que no se observó correlación entre los resultados clínicos y las concentraciones de putrescina y de espermidina en la orina (figura 9)(94).

De acuerdo con los resultados clínicos, los pacientes con una enfermedad leve excretaron concentraciones significativamente más altas de las tres poliaminas en comparación con sujetos normales de la misma edad. Así, las concentraciones de poliaminas en orina podrían ser útiles como marcadores bioquímicos no específicos de la enfermedad y quizás como indicadores de la progresión de pacientes con fibrosis quística diagnosticada.

Se realizaron estudios en sangre total para determinar las concentraciones de poliaminas en la sangre de pacientes con fibrosis quística y en sujetos normales. Se detectó un aumento en las relaciones de espermidina/espermina en la sangre total de pacientes con fibrosis quística y en gemelos (95, 96).

Cohen, Lundgren y Farrel (97), estudiaron los componentes celulares para determinar si los leucocitos o los eritrocitos habrían alterado las concentraciones de poliaminas y encontraron que la concentración de espermidina en los eritrocitos de pacientes con fibrosis quística fue aproximadamente 1.5 veces mayor a la de sujetos normales (tabla 15)(97).

Se observó una disminución de espermina con el consiguiente aumento en la relación de espermidina/espermina a 2.3 en los pacientes con fibrosis quística comparada con 1.5 en los pacientes normales.

Los linfocitos y granulocitos en los pacientes con fibrosis quística también contenían menos espermina. Esto sugirió, como en los estudios sobre las concentraciones de poliaminas en eritrocitos de células cancerosas, que la determinación de las concentraciones de poliaminas en los eritrocitos podría ser útil al evaluar la actividad de la enfermedad y la respuesta a la terapia (97).

Resumiendo, parece que las poliaminas en los componentes sanguíneos y en los fluidos fisiológicos, podrían utilizarse en la elucidación de la historia natural de la fibrosis quística al igual que podrían tener utilidad como marcadores de la respuesta a la terapia. Desafortunadamente, existen pocas drogas efectivas y regímenes terapéuticos que alteran la naturaleza progresiva de la enfermedad (1).

(2) Psoriasis.

La psoriasis es una enfermedad crónica, de causa desconocida, constituida por placas eritematoescamosas en diferentes partes de

FIGURA 9

Concentraciones urinarias de putrescina (A), espermidina (B) y espermina (C) de 12 pacientes con fibrosis quística como función de la patología (94).

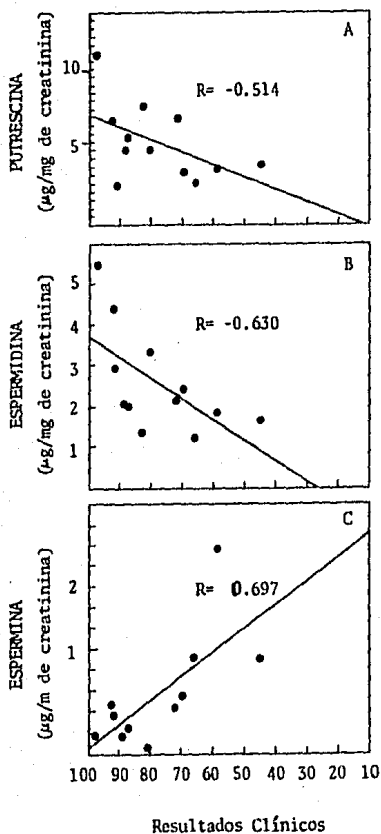


TABLA 15

Concentración de espermidina y espermina en los componentes sanguíneos de sujetos control y de pacientes con fibrosis quística (F.Q.) (97).

	NUMERO		ESPERMIDINA		ESPERMINA	
	CONTROL	F.Q.	CONTROL	F.Q.	CONTROL	F.Q.
Eritrocitos	7	6	1.02 [±] 0.08 ^a	1.48 [±] 0.17 ^b	0.89 [±] 0.28	0.66 [±] 0.065
Linfocitos	4	3	126 [±] 31	115 [±] 22	357 [±] 105	272 [±] 149
Granulocitos	3	2	(36 [±] 16)	(<30)	(240 [±] 33)	(86)
Plasma	4	4	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5

^a Media [±] E.E.M. (Error estándar de la media).

^b p<0.5 contra el control.

Nota: Las concentraciones celulares se expresan como nmol/10⁹ células y las concentraciones de plasma se expresan como nmol/ml.

la piel (98). La topografía de las lesiones de la psoriasis es variada y los sitios de predilección son las salientes óseas: codos, rodillas y la piel cabelluda así como la región sacro-coxígea. Las lesiones elementales son eritema y escama, siempre combinadas y formando placas de diverso tamaño y forma. Por lo general, las placas son bien limitadas y la escama es muy blanca, de aspecto yesoso y gruesa. Otras veces no es tan abundante y descubre el eritema subyacente.

El diagnóstico de la psoriasis es generalmente sencillo por la morfología tan típica de las lesiones pero en ocasiones es necesaria la ayuda de la histopatología (98).

En un estudio reciente sobre las concentraciones de poliaminas en sangre de pacientes con psoriasis se encontraron altas las concentraciones de espermidina y espermina, al doble y al triple en comparación con las de sujetos normales (99).

Grosshans y Henry en 1978 reportaron aumentos en las concentraciones de las tres poliaminas en la piel con psoriasis (100).

Russell et al (101) reportaron concentraciones altas de putrescina, espermidina y espermina en la epidermis de psoriasis comparados con la epidermis normal. Se detectó un aumento en la actividad de las enzimas de la biosíntesis de poliaminas en la epidermis de pacientes con psoriasis. Debido a que en la psoriasis hay un gran número de células epidérmicas en división así como también se encuentra alto el factor de pérdida celular, se pensó que las concentraciones de poliaminas en orina podrían tener aumentos en dicha enfermedad.

La putrescina y la espermidina se encontraron significativamente altas en la orina de pacientes con psoriasis (figura 10). La excreción de putrescina en pacientes con psoriasis se encontró casi dos veces mayor y la espermidina casi tres veces mayor en comparación con la de sujetos normales.

El tratamiento exitoso de la psoriasis con agentes tópicos reveló una disminución en la actividad de las enzimas que biosintetizan poliaminas (101), así como también se observó una disminución en las concentraciones de poliamina en la piel (99, 102, 103).

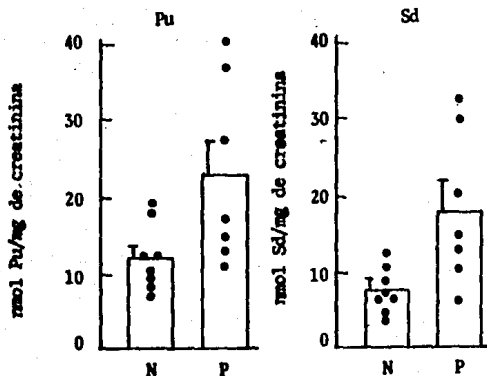
En cultivos de tejidos se ha demostrado que los análogos de retinoides bloquean la inducción de la ODC (104-112).

Grosshans et al (102) lograron disminuir la concentración de poliaminas en la piel psoriática tratando a sus pacientes con un inhibidor irreversible de la ODC, la alfa-difluorometilornitina. La disminución de la concentración de poliaminas fue concomitante con la curación de las lesiones que provoca la psoriasis.

El potencial terapéutico de la farmacología de las poliaminas en

FIGURA 10

Concentraciones de putrescina (Pu) y espermidina (Sd) en la orina con pacientes con psoriasis (P) y voluntarios normales (N). Las concentraciones promedio de putrescina y espermidina fueron significativamente más altas en los pacientes con psoriasis. - Cada círculo negro representa la información de cada individuo (2).



la psoriasis es obvio. Los experimentos en sistemas celulares básicos demuestran que si las concentraciones de poliaminas se reducen, la proliferación celular disminuye. En la psoriasis, los inhibidores de la biosíntesis de poliaminas deben considerarse para uso típico experimental (113).

Concluyendo, las poliaminas en la piel y las concentraciones de poliaminas en la orina de pacientes con psoriasis son marcadores de la actividad de la enfermedad y además, las concentraciones de poliaminas en las lesiones que presenta la psoriasis disminuyen como respuesta al tratamiento quimioterapéutico exitoso.

(3) Poliaminas y desórdenes musculares, particularmente la distrofia muscular de Duchenne.

La distrofia muscular constituye un grupo de alopáticas genéticamente determinadas, que se caracterizan por alteraciones regresivas de los miocitos individuales. Las distrofias se han dividido clínicamente en diversos tipos, fundándose en los cuadros de participación muscular. La distrofia muscular de Duchenne se caracteriza por debilidad de las extremidades proximales y corresponde a todos los caracteres recesivos unidos a X (114).

La tabla 16 reporta las concentraciones intracelulares de poliaminas detectadas en el músculo de pacientes con varios desórdenes musculares. Las concentraciones de putrescina, espermidina y espermina se encontraron marcadamente elevadas en las cinco muestras de biopsias de pacientes con la distrofia muscular de Duchenne. Dichos aumentos se correlacionaron con el grado de la atrofia, hipertrofia, degeneración, regeneración y fibrosis detectadas por técnicas histológicas. En las demás enfermedades neuromusculares, el grado de elevación en las concentraciones de poliaminas en el músculo se correlacionaron con los cambios morfológicos observados, independientemente de la naturaleza del proceso de la enfermedad. Sobre la base de estos acontecimientos, los autores sugirieron que los patrones de acumulación intracelular de poliaminas podrían ser particularmente útiles para la determinación de la actividad de la enfermedad en desórdenes neuromusculares (115).

Kremzner, Tennyson y Miranda (116) demostraron anomalías en la concentración de poliaminas en el bíceps del fémur de ratón con distrofia muscular. La concentración media de putrescina fue seis veces mayor a la del músculo normal. También observaron aumentos en las concentraciones de espermidina y de espermina.

Similarmente se encontraron concentraciones altas de putrescina, espermidina y espermina en los pacientes con la distrofia muscular de Duchenne (107). Las alteraciones en la excreción fue detectable en base a nmol/mg de creatinina, micromol/colección de orina de 24 h o nmol/kg/24 h. Basado en nmol/mg de creatinina,

TABLA 16

Concentraciones de poliaminas en los grandes músculos laterales del humano y en desórdenes musculares (115).

		Poliaminas (nmol/mg de proteína)		
		Pu ^a	Sd ^b	Sm ^c
Normal (N=13)	Media + D.E.	0.1±0.1	0.6±0.5	2.1±1.5
	Límites	0.1-0.4	0.2-2.2	0.8-6.4
Distrofia Muscular de Duchenne (N=5)	Media + D.E.	1.5±0.8	6.5±2.6	11.0±5.1
	Límites	0.4-2.6	2.0-8.6	3.5-16.4
Distrofia Facioescapulo- humeral (N=1)		0.5	1.9	4.0
Distrofia Becker (N=1)		0.7	2.3	4.7
Poliomiositis (N=3)	Media + D.E.	0.1±0.1	1.0±0.1	3.0±1.7
	Límites	0.1-0.2	0.4-1.6	0.9-4.2
Enfermedad de la neurona motora	Media + D.E.	0.4±0.4	2.1±1.4	6.1±3.4
	Límites	0.1-0.9	1.0-4.1	2.8-8.6

Nota: Los controles fueron sujetos sin evidencia de enfermedad neuromuscular

^aPu=Putrescina

^bSd=Espermidina

^cSm=Espermina

las tres poliaminas se encontraron aumentadas en la orina de pacientes con la distrofia muscular de Duchenne. Al corregir estos valores a micromol/24 h o nmol/kg/24 h, se encontraron aumentos significativos de putrescina y de espermina pero no de espermidina.

David Seligman señaló que la orina de 24 horas de un mismo paciente muestra valores consistentes cuando la excreción de poliaminas se expresa por miligramos de creatinina (o algún equivalente). Cuando esta técnica de normalización no se utiliza, los valores pueden ser de dos a tres veces diferentes día a día. Se asumió que estas fluctuaciones, cuando no se utiliza una referencia, se deben a colecciones inadecuadas o a cambios en la función renal o a ambos (47). Además, la excreción de poliaminas es similar a la de creatinina (46) y no está influenciada por la dieta o la variación circadiana cuando se expresa por unidades de creatinina (30, 46, 54)

Ya que otros desórdenes de crecimiento alteran las concentraciones de poliaminas en eritrocitos como función de la actividad de la enfermedad y de la respuesta a la terapia, las concentraciones de poliaminas se midieron en los eritrocitos de pacientes con la distrofia muscular de Duchenne. No se observaron diferencias importantes en las concentraciones de poliaminas en eritrocitos a pesar de que se vió una ligera disminución en la espermidina y en la espermina en los eritrocitos de niños con dicha distrofia (1).

Nuevamente, las concentraciones alteradas de poliamina intracelular y de poliamina urinaria en los desórdenes musculares, reflejaron la actividad de la enfermedad. Si se desarrollaran drogas o regímenes terapéuticos eficaces, las alteraciones en los patrones de excreción de poliaminas deberán reflejar la respuesta a la terapia. Sin embargo, al igual que en la fibrosis quística, no se han descrito los regímenes terapéuticos efectivos para el tratamiento de desórdenes neuromusculares (1).

(4) Embarazos normales y complicados.

Las poliaminas en el fluido amniótico se estudiaron primero en ratas como una función del tiempo de gestación. Al poco tiempo de embarazo, en que se pueden colectar cantidades adecuadas de fluido amniótico, se encontraron concentraciones importantes de espermidina y de espermina (tabla 17)(108).

La concentración más alta de espermidina se encontró presente a los catorce días y disminuyó después hasta un nivel casi no detectable previo al parto.

La concentración de putrescina presentó un patrón diferente al de la espermidina y al de la espermina en el fluido amniótico. Hubo dos períodos con concentraciones altas de putrescina en todas las muestras de fluido amniótico (en los días 14 y de nuevo, en los días

TABLA 17

Poliaminas en fluido amniótico (108).

EDAD DEL FETO (DIAS)	POLIAMINA (nmol/ml)		
	<u>PUTRESCINA</u>	<u>ESPERMIDINA</u>	<u>ESPERMINA</u>
13	48 ± 6.7	47 ± 7.1	38 ± 5.3
14	71 ± 8.3	78 ± 9.2	28 ± 4.7
15	36 ± 6.0	58 ± 7.3	52 ± 7.0
16	57 ± 6.3	31 ± 5.1	52 ± 6.8
17	78 ± 9.2	16 ± 1.1	57 ± 7.3
18	78 ± 8.7	6 ± 0.6	8 ± 0.91
19	37 ± 5.4	< 2	11 ± 2.8
20	21 ± 3.2	< 2	13 ± 3.4

NOTA: El fluido amniótico se colectó a varios tiempos y se determinaron los niveles de putrescina, espermidina y espermina por extracción de las aminas en l-butanol y separación por electroforesis de alto voltaje. Los datos se presentan como la media ± Desviación Estándar (D.E.) para cinco determinaciones.

17 y 18). Las concentraciones de putrescina fueron significativas en todas las muestras de fluido amniótico que se colectaron a diferentes tiempos (108).

Se determinaron las alteraciones en las concentraciones de poliaminas en la sangre de ratas durante el embarazo y la lactancia (109). La concentración de espermidina circulante aumentó significativamente por el día 6 de embarazo en comparación con ratas vírgenes de la misma edad. Se observó un gran aumento en la espermidina justo antes del parto y una disminución justo después del nacimiento, seguido de otro aumento a la concentración más alta a los 3 días de la lactancia. La mayoría de las poliaminas circulantes, el 89%, estaban presentes en la sangre mientras menos del 10% se detectó en el plasma. Fue interesante observar que la espermidina del plasma no estaba en forma conjugada sino libre.

La figura 11 muestra las alteraciones en la espermidina de la sangre de ratas vírgenes, preñadas y post-lactantes (109).

Los patrones de excreción de poliaminas en orina se reportaron durante el último trimestre de embarazo y de nuevo, las concentraciones más altas se encontraron pocos días antes del nacimiento. El segundo pico de excreción de espermidina se observó entre el primer y segundo días después del nacimiento.

Cuando se administró el inhibidor de la diamino oxidasa, aminoguanidina, se observaron los mismos patrones generales de excreción de diaminas y de poliaminas en ratas preñadas a pesar de que la cantidad total excretada aumentó (110). Los aumentos en la putrescina y en la cadaverina en orina fueron más notables después de la administración de la aminoguanidina (110).

Se analizaron las poliaminas en el fluido amniótico, en el plasma y en la orina de mujeres durante el período de gestación (111, 112, 117). Durante el desarrollo temprano se observó una concentración de putrescina marcadamente mayor en el fluido amniótico analizado después de 30 semanas de gestación (figura 12). Lo anterior se correlacionó con la fracción de crecimiento celular alto durante el primer y segundo trimestres de gestación. El aumento de las concentraciones de putrescina, de espermidina y de espermina en la orina se presentó entre las semanas 10 a 14 de gestación (figura 13).

Después de las 16 semanas, las concentraciones de poliaminas de la orina fueron constantes pero las tres poliaminas permanecieron significativamente altas en la orina en comparación con las mujeres no embarazadas. Se observó una concentración alta en la excreción de espermina. En el plasma normal y en la orina, la concentración de espermina fue aproximadamente 20 veces menor que la putrescina y la espermidina (tabla 18).

En otros estudios realizados en niños prematuros se reportó que existe una correlación entre la edad y la disminución en la

FIGURA 11

Concentraciones de espermidina en sangre de ratas vírgenes, embarazadas y postlactantes.

Las concentraciones de espermidina se reportaron como nmol/ml de sangre total de la cual se removió el plasma. La media \pm Desviación Estándar así como el número de animales (paréntesis) se dan para cada fecha (109).

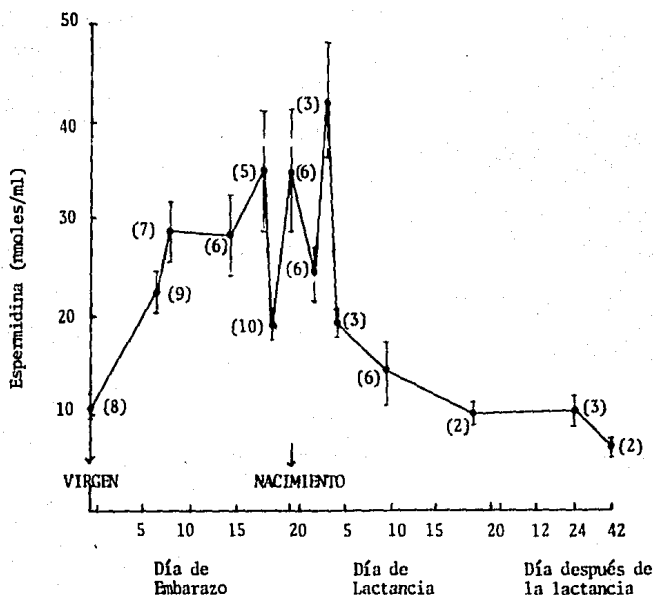


FIGURA 12

Concentraciones de poliaminas en el fluido amniótico 30 semanas antes y 30 semanas después de la gestación (embarazos normales). Se analizaron cerca de 200 muestras. Más de 50 muestras se colectaron después de 30 semanas (2).

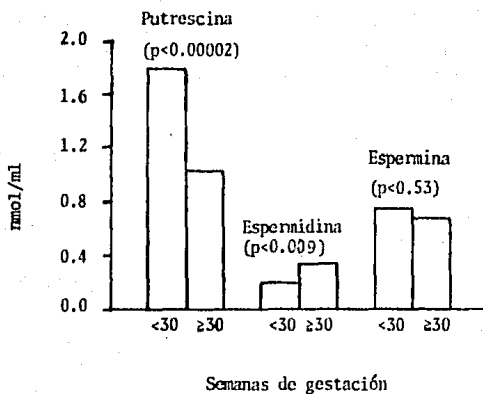


FIGURA 13

Excreción urinaria de poliaminas durante el embarazo normal (2).

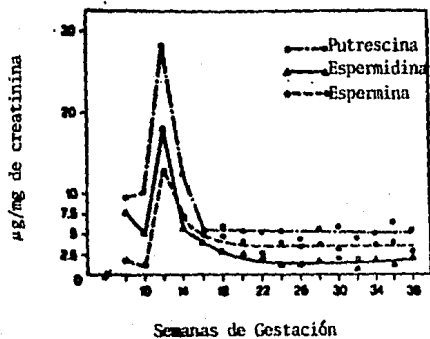


TABLA 18

Concentraciones de poliaminas en mujeres y en embarazadas normales (2).

<u>MUESTRA</u>		PUTRESCINA	ESPERMIDINA	ESPERMINA
		<u>µg/mg de Creatinina</u>	<u>µg/mg de Creatinina</u>	<u>µg/mg de Creatinina</u>
Orina Normal	10	2.5 [±] 0.8 ^a	1.1 [±] 0.5	0.04 [±] 0.007
Orina en embarazo	60	5.4 [±] 1.3	2.0 [±] 0.9	3.10 [±] 1.5
		<u>nmol/m</u>	<u>nmol/m</u>	<u>nmol/m</u>
Plasma normal	10	0.23 [±] 0.1	0.29 [±] 0.1	< 0.01
Plasma en embarazo	15	0.51 [±] 0.2	0.32 [±] 0.2	0.34 [±] 0.2
Fluido amniótico	230	0.96 [±] 0.2	0.33 [±] 0.1	0.76 [±] 0.2

^aMedia ± Desviación Estándar

concentración de la putrescina y la espermidina en la orina y el aumento en la concentración de la cadaverina (118).

Las concentraciones de poliaminas en el fluido amniótico se estudiaron en mujeres embarazadas, con complicaciones tales como la isoimmunización al Rh, la enfermedad hipersensitiva crónica y la diabetes. Se tomaron 13 muestras de fluido amniótico en pacientes con muerte fetal intrauterina y once muestras de pacientes con gestantes de crecimiento intrauterino retardado (119). La tabla 13 compara las concentraciones de poliaminas en el fluido amniótico en embarazos normales, en el crecimiento intrauterino retardado y en embarazos complicados.

Cabe hacer notar que en el grupo con crecimiento intrauterino retardado, la putrescina, la espermidina y la espermina estaban significativamente altas en comparación con embarazos normales. Las mujeres con otras complicaciones del embarazo tuvieron aumentos importantes en la putrescina y espermina pero no en la espermidina. En el grupo con muerte fetal intrauterina, las concentraciones de putrescina, espermidina y cadaverina fueron significativamente mayores en comparación con los embarazos normales de la misma etapa, mientras la espermina no observó diferencias importantes.

Estos estudios sugirieron que durante los embarazos normales, las concentraciones extracelulares de poliaminas reflejaban los periodos de crecimiento rápidos, relacionándolos con el alto porcentaje de células en proceso de mitosis, con los factores de pérdida celular altos que se sabe ocurre durante la embriogénesis y con la formación de órganos, así como con los productos de desechos embrionarios que primero aparecen en el fluido amniótico, luego en la sangre y que finalmente se excretan por los riñones de la madre.

Las alteraciones en el desarrollo fetal parecen reflejar alteraciones precisas en los patrones de poliaminas en el fluido amniótico. Además, parece posible que la amniocentesis en embarazos de alto riesgo y en madres de las que se sospechan desórdenes genéticos (que generarán disfunciones físicas y mentales en el niño), puede determinarse para la detección temprana de un desarrollo fetal anormal (1).

(5) Desórdenes del crecimiento.

Las concentraciones de poliaminas de las células sanguíneas se han evaluado en un estudio de niños con deficiencia hormonal (120). La relación molar de espermidina/espermina se investigó en 54 niños de estatura corta. La media de la relación espermidina-espermina fue de 0.97 en los niños sin desórdenes endocrinos, mientras que la relación fue de 0.61 en los niños con deficiencia en la hormona de crecimiento y en la hormona adrenocorticotrópica. La administración

TABLA 19

Concentraciones de poliaminas en el fluido amniótico en el embarazo normal, en el retardo de crecimiento intrauterino y en embarazos complicados sin retardo de crecimiento después de 30 semanas (119).

	<u>EMBARAZO NORMAL</u>	<u>RETARDO DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO</u>	<u>COMPLICACIONES DEL EMBARAZO SIN RETARDO DE CRECIMIENTO INTRAUTERINO</u>
Número de pacientes	69	11	19
Etapa gestacional	35.4 [±] 3.04	33.8 [±] 2.23	35.6 [±] 1.7
Putrescina (nmol/ml)	0.92 [±] 0.33	2.86 [±] 1.38 ^a	2.37 [±] 1.12 ^a
Espermidina (nmol/ml)	0.29 [±] 0.11	1.88 [±] 1.24 ^b	0.19 [±] 0.33
Espermina (nmol/ml)	0.71 [±] 0.26	1.32 [±] 0.69 ^a	1.16 [±] 0.45 ^a
Cadaverina (nmol/ml)	0.44 [±] 0.83	7.91 [±] 4.02	2.15 [±] 1.84

^a El dato difiere de los controles (p<0.02).

^b El dato difiere de los controles (p<0.001).

NOTA: Cada valor representa la media [±] E.E.M. (Error estándar de la media) para el número de individuos indicados.

de la hormona de crecimiento por un periodo de cinco días aumentó las concentraciones circulantes de la misma, observándose un aumento importante en la relación espermidina-espermina en la sangre. Por otro lado, no se observó una correlación significativa en la relación espermidina/espermina y las concentraciones de cortisol circulantes. En otro estudio, la administración de la hormona de crecimiento a pacientes con hipopituitarismo dió como resultado un aumento rápido en las concentraciones de poliaminas en sangre a los 60 minutos (121). El aumento en la concentración de espermidina y de espermina fue mayor en los pacientes bajo tratamiento continuo.

En un estudio acerca de la excreción de poliaminas en niños con el síndrome de Beckwith (caracterizado por un gigantismo somático), se observaron aumentos importantes en la excreción de putrescina, mientras que la excreción de espermidina se redujo o no fue detectable (122).

(6) Policitemia Vera

Se estudiaron las concentraciones de poliaminas en los leucocitos y en el plasma de pacientes con policitemia vera (123). La enfermedad se caracteriza por una sobrepoblación de eritrocitos y leucocitos. En siete de los once pacientes en estudio, se encontraron concentraciones altas de poliaminas en el plasma. Sin embargo, las concentraciones de poliaminas en los leucocitos disminuyó. Esto pudo deberse a una alteración en el número relativo de los diferentes tipos de leucocitos presentes en la enfermedad o se pudo deber a las alteraciones en las membranas celulares de leucocitos que ocasionaría la liberación de poliaminas de las células.

(7) Daño hepático, fallo hepático y fallo renal.

Se ha propuesto que las concentraciones de poliaminas en suero de niños de cinco años con hepatectomía y puente porta-cava, pueden ser marcadores útiles en el curso de la regeneración hepática (124). La concentración de espermidina en el suero aumenta al final del primer día después de la extirpación. Las concentraciones máximas de de espermidina en el suero se alcanzan entre los 6 a 8 días después de la extirpación del hígado y luego declinan paulatinamente.

El aumento en la espermidina del suero corresponde a la fase de proliferación de la regeneración rápida de los hepatocitos. Conforme la regeneración del hígado entra en la fase de maduración, la espermidina del suero declina y la concentración de espermina comienza a aumentar. La acumulación de espermina se relacionó inversamente con la velocidad de crecimiento del hepatocito y las concentraciones de esta amina en suero aumentaron sólo después de completarse la fase inicial de proliferación.

El fallo hepático presentó concentraciones elevadas de algunas

poliaminas en el plasma. Desser, Kleinberger y Klaring midieron la putrescina, cadaverina, espermidina, diaminopropano y espermina en el plasma de 64 pacientes con insuficiencia hepática y encontraron las 5 aminas elevadas en un 4% aproximadamente, 4 aminas elevadas en un 10% de los casos, 3 aminas elevadas en un 14%, 2 aminas en un 39% y 1 amina en un 22% de los pacientes en estudio (125). La concentración de al menos una poliamina fue elevada en el 78% de los pacientes. La putrescina se encontró con el mayor porcentaje, 59%, la espermidina con un 43%, la cadaverina con un 37%, la diaminopropano con un 14% y la espermina con un 16% en los pacientes con fallo hepático. Los autores sugieren que la elevación en las concentraciones de poliaminas en el plasma de pacientes con insuficiencia hepática son herramientas adecuadas para determinar el grado de dicha insuficiencia. Cabe señalar que existen otros indicadores de daño hepático más precisos como son la determinación de transaminasas séricas (transaminasa glutámica oxalacética y transaminasa glutámico pirúvica), la determinación de bilirrubinas en el suero (prueba de Van der Bergh), la determinación del uribilinógeno y urobilina fecales, la prueba para la bilirrubina en orina así como la del uribilinógeno urinario (126).

En los pacientes con fallo renal crónico, la concentración de espermidina en eritrocitos fue 2 veces mayor a la de los sujetos control, mientras que no se observó ninguna alteración importante en la concentración de espermina (127). Más aun, la concentración de espermidina en los eritrocitos fue mayor en los pacientes con hemodiálisis. Es importante hacer notar que la concentración de espermidina no varió después de la hemodiálisis. El aumento en la espermidina en eritrocitos fue paralela a una disminución en la velocidad de excreción urinaria. En el fallo hepático, la acumulación de espermidina en eritrocitos pudo deberse a la disminución en la excreción de orina.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

VII CONCLUSIONES

De acuerdo con los estudios efectuados en cáncer y en otras patologías, la determinación de las concentraciones de poliaminas puede reflejar la actividad de la enfermedad y la respuesta a la terapia.

Se requiere efectuar aún más investigación experimental sobre poliaminas en otras enfermedades que le permita al clínico lograr una mayor confiabilidad y utilidad en sus diagnósticos.

La información obtenida de las determinaciones de poliaminas podría prolongar el tiempo de supervivencia de los pacientes y podría ayudar a diseñar los regímenes terapéuticos más efectivos para un enfermedad dada.

Debido a que no se cuenta con otros marcadores cinéticos específicos, las poliaminas pueden utilizarse clínicamente para rastrear la evolución de tumores y la respuesta del tumor ante la terapia en aquellos pacientes de alto riesgo, en los cuales dichas medidas podrían traducirse en eficacia terapéutica.

VIII GLOSARIO

Pu.....	putrescina
Sd.....	esperidina
Se.....	esperina
ARN.....	ácido ribonucleico
ADN.....	ácido desoxirribonucleico
Adomet.....	adenosilmetionina
ODC.....	ornitina descarboxilasa
mM.....	milimolar
nmol.....	nanomol
mg.....	miligramo
µg.....	microgramo
ml.....	mililitro
kg.....	kilogramo
h.....	hora
EAV.....	electroforesis de alto voltaje
CIO.....	cromatografía de intercambio iónico
D.E.....	desviación estándar
E.E.....	error estándar
E.E.M.....	error estándar de la media
F.O.....	fibrosis quística

IX BIBLIOGRAFIA

1. Russell, D. H.: Clinical relevance of polyamines. CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 18, 261, 1983.
2. Russell, D.H. y Durie, B. G. M.: Polyamines as biochemical markers of normal and malignant growth, Raven Press, New York, 1978.
3. Smith, T. A.: The physiology of the polyamines and related compounds, Endeavour 31:(12) 22, 1972.
4. Cohen, S. S.: The functions of the polyamines. En: Advances in polyamine research. Vol. 1, Ed. R. A. Campbell et al, Raven Press, New York, 1978.
5. Morris, D. R.: Section Introduction: Biosynthesis of polyamines En: Advances in polyamine research. Vol. 1, Ed. R. A. Campbell et al, Raven Press, New York, 1978.
6. Tabor, H. y Tabor, C. W.: Spermidine, spermine and related amines, Pharmacol. Rev., 16, 245, 1964.
7. Aleksijevic, A., Grove, J. y Schuber, F.: Studies on polyamine biosynthesis in *Euglena gracilis*, Biochim. Biophys. Acta, 565, 199, 1979.
8. Andersson, A. C. y Henningsson, S.: Biobynthesis and accumulation of cadaverine and putrescine in rat ovary after administration of human chorionic gonadotrophin, Acta Endocrinol., 95, 237, 1980.
9. Henningsson, S. Persson, L. y Rosengren, E.: Biosynthesis of cadaverine in mice under the influence of an anabolic steroid, Acta Physiol., 98, 445, 1976.
10. Stepita-Klauco, M. y Dolezalova, H.: Cadaverine in the brain of axenic mice, Nature, 252, 158, 1974.
11. Bolkenius, F. N. y Seiler, N.: Acetyl derivatives as interaediates in polyamine catabolism, Int. J. Biochem., 13, 287, 1981.
12. Russell, D. H.: Polyamines in normal and neoplastic growth, Raven Press, New York, 1973.
13. Bachrach, U.: Function of naturally occurring polyamines, Academic Press, New York, 1973.
14. Cohen, S. S.: Introduction to the polyamines, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J., 1971.
15. Russell, D. H.: Polyamines in growth: normal and neoplastic. En: D. H. Russell (ed.), Polyamines in normal and neoplastic growth, pp 1-13, Raven Press, New York, 1973.
16. Ostberg, S., Rosen, S. y Heby, O.: Urinary polyamine excretion during the menstrual cycle. Clinical Chemistry 24: (5) 769, 1978.
17. Campbell, R. A., Morris, D. R., Bartos, D. Daves, G. D. y Bartos, F. (eds.): Advances in Polyamine Research Vols 1 y 2, Raven Press, New York, 1978.
18. Russell, D. H., Levy, C. C., Schiapff, S. C. y Hawk, I. A.: Urinary polyamines in cancer patients, Cancer Res., 31: 1555-1558, 1971.
19. Bartos, D., Campbell, R. A., Bartos, F. y Grettle, D. P.: Direct determination of polyamines in human serum by radioimmunoassay, Cancer Res., 35: 2056-2060, 1975.

20. Dreyfuss, F., Chayen, R., Dreyfuss, G., Dvir, R. y Ratan, J.: Polyamine excretion in the urine of cancer patients, *Israel J. Med. Sci.*, 11: 785-795, 1975.
21. Fair, W. R. Wehner, N. y Brorsson, U.: Urinary polyamine levels in the diagnosis of carcinoma of the prostate, *J. Urol.* 114: 88-92, 1975.
22. Fujita, K., Nagatsu, T., Maruta, K. Ito, K. Senba, H. y Miki, K.: Urinary putrescine, spermidine and spermine in human blood and solid cancers and in an experimental gastric tumor of rats, *Cancer Res.*, 36: 1320-1324, 1976.
23. Heby, O. y Russell, D. H.: Changes in polyamine metabolism in tumor cells and host tissues during tumor growth and after treatment with various anticancer agents. En: D. H. Russell (ed.), *Polyamines in normal and neoplastic growth*, pp 221-237, Raven Press, New York, 1973.
24. Livingston, R. B., Ambus, U., George, S. L., Freireich, E. J. y Hart, J. S.: In vitro determination of thymidine-3H labeling index in human solid tumors, *Cancer Res.*, 34: 1376-1380, 1974.
25. Marton, L. J., Vaughn, J. G., Hawk, I. A., Levy, C. C. y Russell, D. H.: Elevated polyamine levels in serum and urine of cancer patients: Detection by a rapid automated technique utilizing an amino acid analyzer. En: D. H. Russell (ed.), *Polyamines in normal and neoplastic growth*, pp 367-372, Raven Press, New York, 1973.
26. Nishioka, K. y Rossdahl, M. M.: Elevation of putrescine and spermidine in sera of patients with solid tumors, *Clin. Chim. Acta* 57: 155, 1974.
27. Sanford, E. J., Drago, J. R., Rohner, T. J., Kessler, G. F., Sheehan, L. y Lipton, A.: Preliminary evaluation of urinary polyamines in the diagnosis of genitourinary tract malignancy, *J. Urol.*, 113: 218-221, 1975.
28. Schimpff, S. C., Levy, C. C., Hawk, I. A. y Russell, D. H.: Polyamines: potential roles in the diagnosis, prognosis and therapy of patients with cancer. En: D. H. Russell (ed.) *Polyamines in normal and neoplastic growth*, pp 395-403, Raven Press, New York, 1973.
29. Waalkes, T. P., Gehrke, C. W., Bleyer, W. A., Zumwalt, R. W., Olweny, C. L. M., Kuo, K. C., Lakings, D. B. y Jacobs, S. A.: Potential biologic markers in Burkitt's lymphoma, *Cancer Chemotherapy Rept.*, 59: 721-727, 1975.
30. Waalkes, T. P., Gehrke, C. W., Torney, D. C., Zumwalt, R. W., Hueser, J. N., Kuo, K. C., Lakings, D. B., Ahmann, D. L. y Hoertel, C. C.: Urinary excretion of polyamines by patients with advanced malignancy, *Cancer Chemotherapy Rept.*, 59: 1103-1116, 1975.
31. Marton, L. J., Heby, O., Levin, V. A., Lubich, W. P., Crafts, D. C. y Wilson, C. L. B.: The relationship of polyamines in cerebrospinal fluid to the presence of central nervous system tumors, *Cancer Res.*, 36: 973-977, 1976.
32. Rennert, O. M. y Shukla, J. B.: Polyamines in health and disease En: *Advances in polyamine Research*. Vol. 2. Ed. R. A. Campbell et al, Raven Press, New York, 1978.

33. Siimes, M. y Jänne, J.: Polyamines and their biosynthesis in Ehrlich ascites cells, *Acta Chem. Scand.*, 21, 815, 1967.
34. Russell, D. y Snyder, S. H.: Amine synthesis in rapidly growing tissues: ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo and various tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 60, 1420, 1968.
35. Russell, D. H. y Levy, C. C.: Polyamine accumulation and biosynthesis in a mouse L1210 leukemia, *Cancer Res.*, 31, 248, 1971.
36. Russell, D. H.: Effects of methotrexate and cytosine arabinoside on polyamine metabolism in a mouse L1210 leukemia, *Cancer Res.*, 32, 2459, 1972.
37. Heby, O. y Russell, D. H.: Changes in polyamine metabolism in tumor cells and host tissues during tumor growth and after treatment with various anticancer agents. En: *Polyamines in Normal and Neoplastic Growth*, D. H. Russell (ed.), Raven Press, New York, 1973, 221.
38. Heby, O. y Russell, D. H.: Depression of polyamine synthesis in L1210 leukemic mice during treatment with a potent antileukemic agent, 5-azacytidine, *Cancer Res.*, 33, 159, 1973.
39. Heby, O., Sauter, S. y Russell, D. H.: Stimulation of ornithine decarboxylase activity and inhibition of S-adenosyl-L-methionine decarboxylase activity in leukaemic mice by methylglyoxal-bis-(guanyl-hidrazone), *Biochem. J.*, 136, 1121, 1973.
40. Uehara, N., Shirakawa, S., Uchino, H., Saeki, Y. y Nosaki, M.: Elevated polyamine levels in erythrocytes of SLC:ICR mice inoculated with Ehrlich ascites carcinoma cells, *Life Sci.*, 26, 461, 1980.
41. Russell, D. H. Polyamines as biochemical markers of tumor growth. En: *Biochemical markers for cancer*, T. M. Chu (ed.), Marcel Dekker, New York, 1981, 241.
42. Cavia, E. y Webb, T. E.: The polyamine content in two slow-growing rat hepatomas. *Biochem. J.*, 129, 223, 1972.
43. Russell, D. H., Gullino, P. M., Marton, L. J. y LeGendre, S. M.: Polyamine depletion of the MTW9 mammary tumor and subsequent elevation of spermidine in the sera of tumor-bearing rats as a biochemical marker of tumor regression, *Cancer Res.*, 34, 2378, 1974.
44. Russell, D. H., Looney, U. B., Kobacs, C. J., Hopkins, H. A., Dattilo, J. W. y Morris, H. P.: Changes in serum putrescine and spermidine levels following local radiation to hepatoma 3924A of the rat, *Cancer Res.*, 36, 420, 1976.
45. Russell, D. H., Durie, B. G. M. y Salmon, S. E.: Polyamines as predictors of success and failure in cancer chemotherapy, *Lancet*, 2, 797, 1975.
46. Durie, B. G. M., Salmon, S. E. y Russell, D. H.: Polyamines as markers of response and disease activity in cancer chemotherapy, *Cancer Res.*, 37, 214, 1977.
47. Russell, D. H.: Clinical relevance of polyamines as biochemical markers of tumor kinetics: a review, *Clin. Chem* 23, 22, 1977.

48. Milano, G., Viguier, E., Cessuto, J. P., Schneider, M., Namer, M., Boublil, J. L., Lesbats, G., Cambon, P., Krebs, B. P. y Lalanne, C. M.: Polyamines et affections malignes. *Pathol. Biol.*, 28, 328, 1980.
49. Durie, B. G. M., Russell, D. H. y Salmon, S. E.: Reappraisal of plateau phase in myeloma, *Lancet*, 2, 65, 1980.
50. Russell, D. M.: Increased polyamine concentration in the urine of human cancer patients, *Nature*, 233, 144, 1971.
51. Nishioka, K. y Romsdahl, M. M.: Preliminary longitudinal studies of serum polyamines in patients with colorectal carcinoma, *Cancer Lett.*, 3, 197, 1977.
52. Steel, G. G.: Cell loss as a factor in the growth rates of human tumours, *Eur. J. Cancer*, 3, 381, 1967.
53. Russell, D. H. y Durie, B. G. M. En Tumor markers: impacts and prospects, E. Boelsma y Ph. Runke (eds.), Elsevier, Amsterdam, 1979, 45.
54. Russell, D. H. y Russell, S. D.: Relative usefulness of measuring polyamines in serum, plasma and urine as biochemical markers of cancer, *Clin. Chem.*, 21, 860, 1975.
55. Terabayashi, T.: Polyamines in blood of patients with brain tumor. Concentration of spermidine and spermine in blood, and kind of tumors, especially, relation with histological malignancy of neuroglioma, *Brain Nerve*, (Tokyo), 29, 1215, 1977.
56. Takami, H., Romsdahl, M. M. y Nishioka, K.: Polyamines in blood-cells as a cancer marker, *Lancet*, 2, 912, 1979.
57. Shipe, J. R., Savory, J., Wills, M. R., Rowley, R., Looney, W. B. y Hopkins, H. A.: Erythrocyte polyamine levels in rats with H4IIE hepatomas before and after radiation treatment, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 28, 329, 1980.
58. Takami, H. y Nishioka, K.: Raised polyamines in erythrocytes from melanoma-bearing mice and patients with solid tumours, *Br. J. Cancer*, 41, 751, 1980.
59. Uehara, N., Kita, K., Shirakawa, S., Uchino, H. y Saeki, Y.: Elevated polyamine content in erythrocytes of malignant lymphoma patients, *Gann*, 71, 393, 1980.
60. Uehara, N., Shirakawa, S., Uchino, H. y Saeki, Y.: Elevated contents of spermidine and spermine in the erythrocytes of cancer patients, *Cancer*, 45, 108, 1980.
61. Killian, C. S., Vargas, F. P., Beckley, S., Wajzman, Z., Murphy, G. P. y Chu, T. M.: Analysis of serial erythrocyte polyamines by automated reverse-phase liquid chromatography, *Clin. Chem.*, 26, 983, 1980.
62. Shideler, C. E., Johns, M. E., Shipe, J. R., Wills, M. R. y Savory, J.: Erythrocyte polyamine determinations in head and neck cancer patients, *Head and Neck Surg.*, 3, 346, 1981.
63. Cooper, K. D., Shukla, J. B. y Rennert, O. M.: Polyamine distribution in cellular compartments of blood and in aging erythrocytes, *Clin. Chim. Acta*, 73, 71, 1976.
64. Nishioka, K., Esaki, K. y Hart, J. S.: A preliminary study of polyamines in the bone-marrow plasma of adult patients with leukemia, *Clin. Chim. Acta*, 107, 59, 1980.

65. Rennert, O. M., Miale, T., Shukla, J. Lawson, D. y Frias, J.: Polyamine concentrations in bone marrow aspirates of children with leukemia and other malignancies, *Blood*, 47, 695, 1976.
66. Miale, T. D., Rennert, O. M., Lawson, D. L., Shukla, J. B. y Frias, J. L.: Bone marrow polyamines in children with acute leukemia as related to remission status, therapy, and cellularity of specimens, *Med. Ped. Oncol.*, 3, 209, 1977.
67. Marton, L. J., Heby, O. y Wilson, C. B.: Increased polyamine concentrations in the cerebrospinal fluid of patients with brain tumors, *Int. J. Cancer*, 14, 731, 1974.
68. Marton, L. J., Heby, O., Levin, V. A., Lubich, W. P., Crafts, D. C. y Wilson, C. G.: The relationship of polyamines in cerebrospinal fluid to the presence of central nervous system tumors, *Cancer Res.*, 36, 973, 1976.
69. Marton, L. J., Edwards, M. S., Levin, V. A., Lubich, W. P. y Wilson, C. B.: Predictive value of cerebrospinal fluid polyamines in medulloblastoma, *Cancer Res.*, 39, 993, 1979.
70. Marton, L. J.: CSF polyamines. Potencial as brain tumor markers, *Arch. Neurology*, 38, 73, 1981.
71. Marik, S. I., Wehle, S. U. y Sutton, C. H.: Putrescine: A biochemical marker for malignant brain tumors, *Neurology*, 28, 351, 1978.
72. Rennert, O. M., Lawson, D. L., Shukla, J. B. y Miale, T. D.: Cerebrospinal fluid polyamine monitoring in central nervous system leukemia, *Clin. Chim. Acta*, 75, 365, 1977.
73. Nakajima, T., Zack, J. F. y Wolfgram, F.: N-monoacetylspermidine as a normal constituent of urine, *Biochim. Biophys. Acta*, 184, 651, 1969.
74. Tsuji, M. Nakajima, T. y Sano, I.: Putrescine, spermidine, N-acetylspermidine and spermine in the urine of patients with leukaemias and tumors. *Clin. Chim. Acta*, 59, 161, 1975.
75. Abdel-Moneem, M. M. y Ohno, K.: Polyamine metabolism II: N-(monoaminoalkyl)- and N-(polyaminoalkyl)-acetamides in human urine, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1195, 1977.
76. Abdel-Moneem, M. M. y Ohno, K.: Polyamine metabolism III: urinary acetyl polyamines in human cancer, *J. Pharm. Sci.*, 67, 1671, 1978.
77. Seiler, N. y Knödgen, B.: Determination of the naturally occurring monoacetyl derivatives of di- and polyamines, *J. Chromatogr.*, 164, 155, 1979.
78. Seiler, N., Graham, A. y Bartholeyns, J.: Enhanced urinary excretion of N1-acetylspermidine and the presence of tumors, *Cancer Res.*, 41, 1572, 1981.
79. Seiler, N., Koch-Weser, J., Knödgen, B., Richards, W., Tardif, C., Bolkenius, F. N., Schechter, P., Tell, G., Mamont, P., Fozard, J., Bachrach, U. y Grosshans, E.: The significance of acetylation in the urinary excretion of polyamines. En: *Advances in polyamine research*, vol. 3, C. M. Calderera, V. Zappia y U. Bachrach (eds.), Raven Press, New York, 1981, 197.
80. Mach, M., Kersten, H. y Kersten, W.: Measurements of polyamines and their acetylated derivatives in cell extracts and physiological fluids by use of an amino acid analyzer,

- J. Chromatogr., 223, 51, 1981.
81. Walle, T.: Gas chromatography-mass spectrometry of di- and polyamines in human urine: identification of monoacetylspermidine as a major metabolic product of spermidine in a patient with acute myelocytic leukemia. En: Polyamines in normal and neoplastic growth, D. H. Russell (ed.), Raven Press, New York, 1973, 355.
 82. Folk, J. E., Park, M. H., Chung, S. E. Schrode, J., Lester, E. P. y Cooper, H. L.: Polyamines as physiological substrates for transglutaminases, J. Biol. Chem., 255, 3695, 1980.
 83. Williams-Ashman, H. G., Beil, R. E., Wilson, J., Hawkins, M., Grayhack, J., Zunamon, A. y Weinstein, N. K.: Transglutaminases in mammalian reproductive tissues and fluids: relation to polyamine metabolism and semen coagulation, Adv. Enzyme Regul., 18, 329, 1980.
 84. Williams-Ashman, H. G. y Canellakis, Z. N.: Polyamines in mammalian biology and medicine. Perspect. Biol. Med., 22, 421, 1979.
 85. Nakamoto, Y., Nakajima, T., Kumon, A., Matsuoka, Y., Imachi, N., Sano, I. y Nakazawa, A.: Putrescine, N-(4-aminobutyl)-3-aminopropionic acid. An amino acid occurring uniquely in the mammalian central nervous system, J. Biol. Chem., 244, 6003, 1969.
 86. Asatour, A. M.: Isolation and characterisation of a new urinary metabolite derived from spermidine, Biochim. Biophys. Acta, 586, 55, 1979.
 87. Feroli, M. E. y Conolli, R.: Changes of liver and kidney polyamine levels during ageing. Exp. Gerontol., 10, 13, 1975.
 88. Janne, J., Raina, A. y Siimes, M.: Spermidine and spermine in rat tissues at different ages, Acta Physiol. Scand., 62, 352, 1965.
 89. Siimes, M.: Polyamines in human organs. En: Abstr. 3rd Meet. Fed. Eur. Biochem. Soc., Warsaw, 1966, 10.
 90. Halberg, F., Gehrke, C. W., Zinneman, H., Nelson, W. L., Cadotte, L., Rosenberg, A., Soong, L., Bazin, H. y Good, R. A.: Circadian rhythmic polyamine excretion by rats with immunocytoma, Physiologist, 19, 215, 1976.
 91. Halberg, F., Gehrke, C. W., Zinneman, H. H., Kuo, K., Nelson, W. L., Dubey, D. P., Cadotte, L. M., Haus, E., Scheving, L. E., Good, R. A., Rosenberg, A., Soong, L., Bazin, H. y Abdel-Moneem, M. M.: Circadian rhythms in polyamine excretion by rats bearing an immunocytoma, Chronobiologia, 3, 309, 1976.
 92. Lundgren, D. W., Farrell, P. M., Cohen, L. F. y Hankins, J.: Fluctuations of unbound whole blood polyamine levels during the menstrual cycle, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 152, 81, 1976.
 93. Osterberg, S., Rosen, S. y Heby, O.: Urinary polyamine excretion during the menstrual cycle, Clin. Chem., 24, 769, 1978.
 94. Russell, D. H., Rosenblum, M. G., Beckerman, R. C., Durie, B. G. M., Taussig, L. M. y Barnett, D. R.: Altered polyamine metabolism in cystic fibrosis, Pediatr. Res., 13, 1137, 1979.
 95. Rennert, O., Frias, J. y LaPoint, D.: Methylation of RNA and polyamine metabolism in cystic fibrosis. En: Fundamental problems of cystic fibrosis and related diseases, J. A. Manóes

- y R. C. Talamo (eds.), Intercontinental, New York, 1973, 41.
96. Lundgren, D. W., Farrell, P. M. y diSant'Agnes, P. A.: Polyamine alterations in blood of male homozygotes and heterozygotes for cystic fibrosis, *Clin. Chim. Acta*, 62, 357, 1975.
 97. Cohen, L. F., Lundgren, D. W. y Farrell, P. M.: Distribution of spermidine and spermine in blood from cystic fibrosis patients and control subjects, *Blood*, 48, 469, 1976.
 98. Saúl, Amado: *Lecciones de dermatología*, Francisco Méndez Cervantes (ed.), México, 1973, pp 271-274.
 99. Proctor, M. S., Fletcher, H. V., Shukla, J. B. y Rennert, O. M.: Elevated spermidine and spermine levels in the blood of psoriasis patients, *J. Invest. Dermatol.*, 65, 409, 1975.
 100. Grosshans, E. y Henry, M.: Skin polyamine levels in psoriasis - the effect of therapy, *Invest. Dermatol.*, 70, 227, 1978.
 101. Russell, D. H., Coabest, W. L. Duell, E. A., Stawiski, M. A., Anderson, T. F. y Voorhees, J. J.: Glucocorticoid inhibits elevated polyamine biosynthesis in psoriasis, *J. Invest. Dermatol.*, 71, 177, 1978.
 102. Grosshans, E., Henry, M., Tell, G., Schechter, P. -J., Bohlen, P. Grove, J. y Koch-Weser, J.: Les polyamines dans le psoriasis, *Ann. Dermatol. Venerol. (Paris)*, 107, 377, 1980.
 103. Proctor, M. S., Wilkinson, D. I., Orenberg, E. K. y Farber, E. M.: Lowered cutaneous and urinary levels of polyamines with clinical improvement in treated psoriasis, *Arch. Dermatol.*, 115, 945, 1979.
 104. Haddox, M. K. y Russell, D. H.: Cell cycle-specific locus of vitamin A inhibition of growth, *Cancer Res.*, 39, 2476, 1979.
 105. Haddox, M. K., Scott, K. F. y Russell, D. H.: Retinol inhibition of ornithine decarboxylase induction and G1 progression in Chinese hamster ovary cells, *Cancer res.*, 39, 4930, 1979.
 106. Russell, D. H. y Haddox, M. K.: Antiproliferative effects of retinoids related to the cell cycle-specific inhibition of ornithine decarboxylase, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 359, 281, 1981.
 107. Russell, D. H. y Stern, L. Z.: Altered polyamine excretion in Duchenne muscular dystrophy, *Neurology*, 31, 80, 1981.
 108. Russell, D. H. y McVicker, T. A.: Polyamines in the developing rat and in supportive tissues, *Biochim. Biophys. Acta*, 259, 247 1972.
 109. Lundgren, D. W. y Oka, T.: Alterations in polyamine levels in rat blood during pregnancy and lactation, *Am. J. Physiol.*, 234, E451, 1978.
 110. Andersson, A. -C., Henningsson, S. y Rosengren, E.: Increased formation of diamines and polyamines in the pregnant rat, *J. Physiol.*, 285, 311, 1978.
 111. Fujita, K., Nagatsu, T., Maruta, K., Ito, M., Senba, H. y Miki, K.: Urinary putrescine, spermidine and spermine in human blood and solid cancers and in an experimental gastric tumor of rats, *Cancer Res.*, 36, 1320, 1976.
 112. Russell, D. H., Giles, H. R., Christian, C. D. y Campbell, J. L.:

- Polyamines in amniotic fluid, plasma and urine during normal pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 132, 649, 1978.
113. Voorhes, J. J.: Polyamines and psoriasis, *Arch. Dermatol.*, 115, 943, 1979.
 114. Robbins, S. L.: *Patología estructural y funcional*, Nueva Editorial Interamericana S. A. de C. V., México, 1975, 1371.
 115. Kaminska, A. M., Stern, L. Z. y Russell, D. H.: Altered muscle polyamine levels in human neuromuscular diseases, *Ann. Neurology*, 9, 605, 1981.
 116. Kremzner, L. T., Tennyson, V. M. y Miranda, A. F.: Polyamine metabolism in normal denervated, and dystrophic muscle. En *Advances in polyamine research*, Vol. 2, R. A. Campbell et al (eds.), Raven Press, New York, 1978, 241.
 117. Giles, H. R., Russell, D. H. y Christian, C. D.: Polyamines in amniotic fluid as potential indicators of fetal growth, *Gynecol. Invest.*, 8, 61, 1977.
 118. Perlman, M., Chan, W. -Y., Ramadan, T., Griesmann, G. y Rennert, O.: Urinary polyamines in preterm infants, *Pediatr. Res.*, 14, 578, 1980.
 119. Gruenwald, P.: Growth of the human fetus, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 94, 1112, 1966.
 120. Leisti, S., Perheentupa, J., Akerblom, H. K. y Siimes, M. A.: Blood cell polyamines in children with short stature in reference to growth hormone activity, *Pediatr. Res.*, 14, 339, 1980.
 121. Rennaconi, S., Casti, A., Orlandini, G., Reali, N., Virdis, P. y Giovannelli, G.: Effects of human growth hormone on blood polyamines in hypopituitarism, *Helv. Paediatr. Acta*, 35, 141, 1980.
 122. Barlow, G. B.: Excretion of polyamines by children with Beckwith's syndrome, *Arch. Dis. Childhood*, 55, 40, 1980.
 123. Desser, H., Häcker, P., Weiser, M. y Böhnel, J.: The content of unbound polyamines in blood plasma and leukocytes of patients with polycythemia vera, *Clin. Chie. Acta*, 63, 243, 1975.
 124. Monson, R. C., Rodgers, B. M., Garnica, A. D. y Talbert, J. L.: Serum polyamine and octopamine changes following partial hepatectomy and portacaval shunt, *J. Pediatr. Surg.*, 12, 1079, 1977.
 125. Desser, H., Kleinberger, G. y Klarner, W. J.: Hepatic failure and polyamine levels in blood plasma. *IRCS Med. Sci.*, 6, 248, 1980.
 126. Harper, H. A., Rodwell, V. W. y Hayes, P. A.: *Manual de química fisiológica*, el Manual Moderno, México, 1978, 84, 220-222.
 127. Swendsid, M. E., Panaqua, M. y Kopple, J. D.: Polyamine concentrations in red cells and urine of patients with chronic renal failure, *Life Sci.*, 26, 533, 1980.