
Factores de crecimiento IV

Factor de crecimiento epidérmico, Factores estimuladores de colonias, Neurotropinas

JUAN G. MALDONADO
HILDA N. JARAMILLO

En esta cuarta entrega sobre los factores de crecimiento se revisan el factor de crecimiento epidérmico (EGF), los factores estimuladores de colonias (CSF) y las neurotropinas. Como se ha venido presentando en las anteriores entregas, se hace referencia a su estructura bioquímica, su mecanismo de acción, sus efectos biológicos y sus interacciones. Las neurotropinas y el EGF, por tratarse de factores que actúan predominantemente en el microambiente tisular, no pueden manejarse en el contexto de concentraciones circulantes, situación que sí es factible para los CSF. De otro lado, se revisan los mecanismos de las neurotropinas en el sistema nervioso.

PALABRAS CLAVE

CITOQUINAS

RECEPTORES

SEGUNDO MENSAJERO

TIROSINA QUINASA

FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO

El factor de crecimiento epidérmico, EGF por su sigla en inglés (*Epidermal Growth Factor*) es un

polipéptido de cadena simple constituido por 53 aminoácidos, con un peso molecular de 6.045 daltones. Es producido en altas cantidades en el riñón (1), el ovario, el endometrio, la decidua, las membranas fetales y la placenta (2), al igual que en los astrocitos del cerebelo y de la materia gris del telencéfalo. Este factor se encuentra en altas concentraciones en el LCR y en el SNC del feto (1).

Receptor

El receptor para el EGF (EGF-R) pertenece a la subclase I de la familia de los receptores tirosinaquinasa; es decir, es monomérico con dos secuencias ricas en cisteína en el dominio extracelular (3). La activación del receptor, por la unión de los ligandos EGF o TGF α , induce la autofosforilación de los residuos tirosina del dominio intracelular (4). En el hombre, el gene que codifica el receptor ha sido *mapeado* en el brazo largo del cromosoma 7 (5), mientras que el gen que codifica el EGF ha sido localizado en el brazo corto del cromosoma 4 (1).

JUAN GUILLERMO MALDONADO E. MVZ, MS, Profesor Asistente, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia y grupo de Teriogenología, Centro de Investigaciones Pecuarias. HILDA NORHA JARAMILLO L. MD, MS, Profesora Titular, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

El receptor para el EGF se encuentra en altas concentraciones en una amplia variedad de líneas celulares (6-8) y de células tumorales (9,10); su abundante distribución en estas últimas permitió formular la hipótesis de que los factores de crecimiento y sus receptores están implicados en los procesos tumorales, al parecer por un estímulo autocrino sostenido.

Efectos biológicos

El EGF ejerce sus efectos, principalmente, en la proliferación y la diferenciación de las células mesenquimatosas y epiteliales. En las células gliales, ricas en proteína ácida fibrilar, cultivadas *in vitro*, la adición del EGF induce la síntesis de DNA, la progresión del ciclo celular, la captación de glucosa y la síntesis de poliaminas (6). El EGF induce un aumento en la producción de la descarboxilasa de ornitina (ODC), enzima limitante de la síntesis de poliaminas, las cuales confieren ventajas de crecimiento a algunos tumores. Así pues, se plantea que dicho mecanismo explicaría la asociación positiva entre la producción excesiva del EGF y la proliferación tumoral (10).

En el trofoblasto humano la unión del EGF a su receptor induce la producción de gonadotropina coriónica (hCG), lactógeno placentario (hPL) y progesterona (7,8). La presencia del sistema de ligando-receptor para el EGF en el útero y en el feto, sugiere su participación en el reconocimiento materno de la gestación y en las señales bioquímicas entre el embrión y el útero (3).

En el riñón el EGF es un potente inductor de la reparación de las células epiteliales de los túbulos proximales. En ratas, acelera la replicación de las células epiteliales durante la fase de recuperación de la falla renal producida por isquemia aguda o por cloruro de mercurio (11). Por último, en la psoriasis se ha encontrado disminución de la afinidad de los receptores por su ligando, por lo que se

piensa que ello podría ser una de las causas de la afección (12).

FACTORES ESTIMULADORES DE COLONIAS

Los factores estimuladores de colonias, CSFs, por su sigla en inglés (*Colony Stimulating Factors*), son un grupo de glucoproteínas que regulan la diferenciación y la proliferación de los precursores hematopoyéticos de las células fagocíticas; además, regulan la maduración y el funcionamiento de monocitos, macrófagos y granulocitos maduros (13,14).

El grupo de los CSFs, también llamados factores de crecimiento de las células fagocíticas, está conformado por los siguientes: 1) el factor estimulador de colonias (CSF) y la interleuquina 3 (IL-3) los cuales estimulan, en la médula ósea, la diferenciación de la célula madre bipotencial para la serie monocítica o granulocítica; 2) el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), sinérgico con el anterior; 3) el factor estimulador de colonias de monocitos (M-CSF), el cual estimula la diferenciación de la serie monocítica; y 4) el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF), el cual estimula la diferenciación de la serie granulocítica (15).

Los CSFs son producidos por una amplia variedad de células, entre ellas los fibroblastos, las células estromales y endoteliales de la médula ósea, los linfocitos y los fagocitos activados; la concentración sérica basal de los CSFs es baja pero se eleva dramáticamente ante cualquier situación que requiera un aumento en la cantidad circulante de estas células (15).

Estructura

Los CSFs son glucoproteínas; su contenido de carbohidratos, bastante variable, es el responsable

de su amplio rango de peso molecular, que oscila entre 18 y 90 KDa. El GM-CSF, el G-CSF y la IL-3 tienen una sola cadena peptídica, en tanto que el M-CSF es un dímero cuyas subunidades son idénticas; el componente de carbohidratos no se requiere para su actividad biológica (16). Los cuatro factores no poseen entre sí homología estructural significativa, aunque sus genes tienen estructuras similares (los genes para el GM-CSF y la IL-3 se encuentran adyacentes y posiblemente ligados en el cromosoma 5; tres de los receptores para estos factores tienen secuencias homólogas en sus cadenas polipeptídicas (16).

Receptores

Los receptores para GM-CSF, IL-3 y G-CSF pertenecen a una superfamilia de receptores de tipo ligando (transmiten su mensaje por la activación de un segundo mensajero), tienen homología en su dominio de unión con el ligando (18). Por su parte, el receptor para el M-CSF posee un dominio citoplasmático con actividad de tirosina-quinasa (18).

En el hombre el receptor para la IL-5 tiene una secuencia idéntica al dominio activo del receptor para los CSFs; por su parte, el GM-CSF y la IL-3 presentan reacción cruzada con sus respectivos receptores. Se ha encontrado que la combinación de dos CSFs tiene un efecto aditivo en la respuesta de la célula blanco (18).

Poseen receptores para los CSFs las células indiferenciadas de la médula ósea, las diferenciadas de las series granulocítica y monocítica y las células maduras circulantes. La conformación y ubicación de los receptores en la membrana, por sus posibilidades de reacción cruzada, permiten que diversos CSF puedan estimular el mismo tipo celular; además, sólo se requiere de la ocupación de unos pocos receptores para la activación de la señal (18).

Las células fagocíticas poseen receptores para todos los CSFs, lo que da cuenta de la variabilidad y amplitud de la respuesta. La ocupación de un tipo de receptor por alguno de los CSFs disminuye su disponibilidad para cualquier otro.

Mecanismo de acción

Los CSFs en la célula progenitora activan el ciclo celular e inducen su diferenciación y proliferación; cuando actúan sobre la célula madura, activan sus funciones fagocíticas; esto es, estimulan la quimiotaxis, la fagocitosis, la explosión respiratoria y la liberación de productos de activación, entre ellos su propio factor de crecimiento, G-CSF para granulocitos y M-CSF para macrófagos. Todos estos eventos implican la activación de la transcripción génica y del citoesqueleto, y la expresión de moléculas de adhesión, hechos que en conjunto participan en la respuesta ante el estímulo que las activa (16,19).

La regulación de los efectos está dada, en parte, por transmodulación de los receptores; es decir, la unión del ligando al receptor conduce a disminución del número de receptores de la membrana, ya que ocurre una internalización y degradación del complejo ligando - receptor; todos los receptores disminuyen, incluso aquéllos distintos a los que condujeron al estímulo (14). Se da un mecanismo de retroalimentación negativa que limita el tiempo de acción de cada factor.

Efectos biológicos

Como ya se mencionó, los CSFs son necesarios para la diferenciación y la proliferación de células progenitoras hematopoyéticas; además, estimulan varias de las funciones de los neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y macrófagos. En el ratón el GM-CSF estimula la destrucción de parásitos, ya que induce en los macrófagos la expresión de moléculas de adherencia, la quimiotaxis, la fagocitosis y la explosión respiratoria (14-16,18).

En el hombre, los CSFs estimulan la adherencia de los monocitos y su capacidad para destruir células tumorales mediante la producción y liberación de proteínas y citoquinas, entre ellas el factor de necrosis tumoral (TNF). En estudios realizados con leucocitos humanos se ha encontrado que el G-CSF y el GM-CSF, al actuar sobre neutrófilos activados por FMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanina), inducen un incremento en la liberación del anión superóxido (O_2^-). Por su parte, el GM-CSF, el M-CSF y la IL-3, al actuar sobre los monocitos, activados por FMLP o por concanavalina A (Con-A), inducen también un aumento en la liberación de O_2^- (18).

NEUROTROPINAS

Las neurotropinas comprenden un grupo de factores de crecimiento específicos del sistema nervioso central y periférico, necesarios para su funcionamiento; son producidas por los astrocitos y por la mayoría de las células simpáticas y sensitivas (20). Con excepción del factor de crecimiento nervioso (NGF), las neurotropinas no ejercen efectos en la proliferación celular, sino que actúan como factores de sobrevivencia de las células diferenciadas (21).

Las neurotropinas activan diversos patrones específicos y complejos de la expresión génica, necesarios para inducir la especialización neuronal y mantener la diferenciación del fenotipo (20). Durante la vida embrionaria los tejidos periféricos, blanco de la inervación, producen una neurotropina específica, responsable a su vez de regular el crecimiento de la población neuronal que inerva; esta neurotropina, transportada retrógradamente por el axón hacia el cuerpo neuronal, retroalimenta la neurona, lo que facilita su diferenciación (21).

Hasta el momento se han caracterizado y secuenciado cinco neurotropinas: 1) el factor de crecimiento nervioso, NGF (*nerve growth factor*)

llamado también neurotropina 1 (NT-1); 2) el factor de crecimiento derivado del cerebro, BDNF (*brain derived growth factor*) o NT-2; 3) la neurotropina 3 (NT-3); 4) la neurotropina 4 (NT-4) de mamíferos y de *Xenopus* y 5) la neurotropina 5 (NT-5), de reciente descubrimiento en el hombre. También son considerados como neurotropinas el factor neurotrópico ciliar, CNTF (*ciliar neurotropic factor*) y la forma ácida del factor de crecimiento de fibroblastos, aFGF (*acidic fibroblast growth factor*) (20).

Hay receptores específicos de alta afinidad para cada neurotropina ($K_d = 10^{-11}$ M) y otros de baja afinidad ($K_d = 10^{-9}$ M); estos últimos reaccionan en forma cruzada con los diferentes ligandos según la concentración de los mismos. Es posible que la existencia de los dos tipos de receptores tenga ventajas evolutivas, ya que los receptores de baja afinidad mantendrían las funciones comunes a las diferentes neurotropinas, en tanto que los de alta afinidad mediarían las específicas, mas no absolutas, de cada una de ellas (20).

Los receptores de baja afinidad son glucoproteínas de 75 KDa, llamadas p75; los de alta afinidad tienen actividad de tirosina-quinasa. En la rata ambos tipos de receptores se localizan en el núcleo septal medial y en el área de Broca. Los receptores de alta afinidad comprenden: 1) el receptor para el NGF, proteína de 140 KDa (24); 2) el receptor para el BDNF, con amplia distribución en la corteza cerebral y en el septo lateral (20, 22) y 3) el receptor para la NT-3 (20).

Factor de crecimiento neurítico

Desde 1954 existían informes de un factor capaz de inducir crecimiento de dendritas en neuronas cultivadas *in vitro* y de ganglios nerviosos simpáticos *in vivo*; este factor se aisló del veneno de víbora y posteriormente de la glándula submaxilar del ratón. Fue caracterizado en 1969 y recibió el nombre de NGF (21).

Es producido en muchos tejidos: vesículas seminales, semen, células de Sertoli y espermatocitos; tejidos con inervación sensitiva y simpática; tejidos del sistema inmune como timo, bazo, ganglios linfáticos, tejido linfático asociado al intestino (GALT) y médula ósea (20). El NGF es producido como precursor proNGF con 305 residuos aminoácidos; ha sido aislado de nueve especies animales, entre las cuales es posible encontrar homologías estructurales que oscilan entre el 66% y el 99% (23).

La forma activa del NGF está constituida por un dímero de 13.250 daltones. Cada monómero posee una cadena de 118 residuos aminoácidos, con alta proporción de aminoácidos básicos; posee, además, tres puentes disulfuro altamente conservados en las diferentes neurotropinas. Se ha observado que el NGF tiene un alto grado de homología con la insulina; por ello se piensa que ambas moléculas provienen de un gen ancestral común (21).

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del NGF se ha estudiado intensamente en la línea celular murina PC12, pero aún no está completamente aclarado. En estas células, la unión del ligando a su receptor induce la fosforilación de los residuos de tirosina de varias proteínas, entre ellas las quinasas de serina/treonina, las quinasas de prolina, la quinasas-N, las quinasas S6 y las proteínas - quinasas tipo C (24).

Un grupo de genes, denominados genes de respuesta temprana, requeridos para inducir los cambios en el patrón de la expresión génica de la célula, se activan en las células PC-12 por efecto del NGF. Adicionalmente, el NGF induce la expresión de otros grupos de genes, denominados de respuesta tardía, que regulan eventos "transcripcionales" o "postrcripcionales", tales como el gen de las subunidades de microfilamentos, el de canales de sodio y el de canales de calcio. (24).

Efectos en el SNP

El NGF es absolutamente necesario en el desarrollo embrionario y en el funcionamiento fetal y postnatal de grupos neuronales específicos del SNC y del SNP (24). Además, está comprometido en los procesos de proliferación y diferenciación neuronal, en el crecimiento y la maduración de axones y en la producción de neurotransmisores (25). También se ha demostrado que la diferenciación renal durante el desarrollo embrionario depende de la producción de NGF y de su receptor (25).

Los efectos del NGF en el SNP se han estudiado tanto *in vivo* como *in vitro*; administrado a ratones recién nacidos induce hipertrofia de los ganglios simpáticos de la raíz dorsal, en donde afecta los grupos neuronales que producen y secretan sustancia P. Recordemos que ésta, al ser liberada en la periferia, induce degranulación de los mastocitos, vasodilatación y extravasación de plasma (23).

La administración de anticuerpos contra el NGF a ratas gestantes induce, en la camada, atrofia de los ganglios nerviosos simpáticos caracterizada por la muerte de los cuerpos neuronales, seguida de la proliferación de astrocitos y fibroblastos, fenómeno conocido como inmunosimpatectomía (21).

En animales viejos la administración de NGF recupera la actividad de las enzimas barredoras de radicales de oxígeno y de peróxido de hidrógeno como la catalasa, la dismutasa del superóxido y la peroxidasa del glutatión (26). Por otro lado, los radicales del oxígeno, liberados por las lesiones nerviosas, inducen la expresión de los genes del NGF y del factor de crecimiento de fibroblastos tipo básico (bFGF); así pues, estos factores cumplen una función protectora de las estructuras nerviosas cercanas a la lesión (27).

Efectos en los ganglios simpáticos y en el sistema inmune

Las neuronas adrenérgicas, de axón largo, que inervan las estructuras del sistema inmune, son las que tienen la mayor capacidad de respuesta al NGF; por su parte, las células del sistema inmune pueden producir el NGF, el cual, como se mencionó, tiene la capacidad de retroalimentar el cuerpo neuronal.

Efectos en el SNC

El NGF y su ARNm están presentes en el sistema nervioso del feto y del adulto de todos los vertebrados; se encuentran en la corteza cerebral, el hipocampo y los núcleos preóptico y ventrolateral del hipotálamo. Las neuronas colinérgicas macrocelulares del tallo cerebral son las principales efectoras del NGF; en ellas se ha observado aumento de la actividad de la enzima acetiltransferasa de colina (20).

Se han encontrado altos niveles de NGF en la sangre de ratones sometidos a peleas, en los episodios siguientes a los eventos agresivos; dado que las mayores concentraciones se encuentran en el animal perdedor, se argumenta que el NGF aumenta tanto la conducta agresiva como la ansiedad, por ser esta última la responsable de la derrota (28,29).

SUMMARY

GROWTH FACTORS: EPIDERMAL GROWTH FACTOR, COLONY STIMULATING FACTORS AND NEUROTROPINS

In this fourth review of growth factors we summarize, as in previous papers, topics related to biochemical structure, mechanisms of action, biological effects and cross-interactions for epidermal growth factor (EGF), colony stimulating factors (CSF) and neurotrophins. Since the effects

of EGF and neurotrophins are exerted predominantly at the microenvironment level, they can not be evaluated by means of its circulating levels, a fact that could be possible for CSFs.

BIBLIOGRAFÍA

1. Petrides PE, Bock S, Bovens J, Hofmann R, Jakse G. Modulation of pro-epidermal growth factor, pro-transforming growth factor an epidermal growth factor receptor gene expression in human renal carcinomas. *Cancer Res* 1990; 50: 3.934-3.939.
2. Ohlsson C, Nilsson A, Isaksson O, Linda HLA. Growth hormone induces multiplication of the slowly cycling germinal cells of the rat tibial growth plate. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992; 89: 9.826-9.830.
3. Hofmann GE, Drews MR, Scott RT. Epidermal growth factor and its receptor in human implantation trophoblast: immunohistochemical evidence for autocrine-paracrine function. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992; 74: 981-988.
4. Miyajima A, Kitamura T, Harada N, Kitamura T, Arai K. Cytokine receptors and signal transductions. *Ann Rev Immunol* 1992; 10: 295-331.
5. Shimizu M, Behzadian MA, Shimizu Y. Genetics for cell surface receptors for bioactive peptides: binding of EGF is associated with the presence of human chromosome 7 in human-mouse hybrids. *Proc Nat Acad Sci USA* 1980; 77: 3.600-3.604.
6. Huff KR, Schreier W, Ibric L. Proliferation-related responses in rat astrocytes to epidermal growth factor. *Int J Devl Neurosc* 1990; 8: 255-266.
7. Taketani Y, Mizuno M. Evidence for direct regulation for epidermal growth factor receptors by steroid hormones in human endometrial cells. *Human Reprod* 1991; 6: 1.365-1.369.
8. Li R-H, Zhuang L-Z. Study of reproductive endocrinology of human placenta. *Science China* 1991; 34: 938-946.
9. Martyre MC, Grimaux M, Beaupain R. Increase of epidermal growth factor receptor expression associated with a lack of antiproliferative effect of INF-beta in human lung cancer nodules in organotypic culture. *Tumor Biol* 1990; 11: 202-209.
10. Morris GI, Green Dood J. Epidermal growth factor receptor mRNA levels in human prostatic tumors and cell lines. *J Urol* 1990; 143: 1.272-1.274.
11. Coimbra TM, Cieslinski DA, Humes D. Epidermal growth factor accelerates renal repair in mercuric chloride nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1990; 259: F438-F443.
12. Urano Y, Ikeuchi T, Fujimoto A, Asano T, Arasa S, Shigemi F, et. al. Decreased high-affinity epidermal growth factor receptors in psoriatic epidermis. *Tokushima J Exp Med* 1989; 36: 53-58.
13. Steimbeck MJ, Roth JA. Neutrophil activation by recombinant cytokines. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 549-568.
14. Schwartz RM, Emerson SG, Clark F, Polsson BO. In vitro myelopoiesis stimulated by rapid medium exchange and supplementation with hematopoietic growth factors. *Blood* 1991; 78: 3.155-3.161.
15. Metcalf D. Control of granulocytes and macrophages: molecular, cellular, and clinical aspects. *Science* 1991; 254: 529-533.

16. Yuo A, Kitagawa S, Motoyoshi K, Azuma E, Saito M, Takaku F. Rapid priming of human monocytes by human hematopoietic growth factors: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF), Macrophage-CSF, and Interleukin-3 selectively enhance superoxide release triggered by receptor-mediated agonists. *Blood* 1992; 79: 1.553-1.557.
 17. Groopman JE. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human immunodeficiency virus disease. *Semin Hematol* 1990; 27: 8-14.
 18. Hamilton JA, Piccoli DS, Cebon J, Layton JE, Rathanaswani P, McColl SR, et al. Cytokine regulation of colony-stimulating factor (CSF) production in cultured human sinovial fibroblast II. Similarities and differences in the control of interleukin-1 induction of granulocyte-macrophage CSF and granulocyte CSF production. *Blood* 1992; 79: 1.413-1.419.
 19. Aaronson SA. Growth factors and cancer. *Science* 1991; 254:1.146-1.153.
 20. Ebendal T. Function and evolution in the NGF family and its receptors. *J Neurosci Res* 1992; 32: 461-470.
 21. Anderson JD. Neural signaling. The highs and lows of a NGF receptor. *Curr Biol* 1992; 2: 461-463.
 22. Lo DC. Protein structure. NGF takes shape. *Curr Biol* 1992; 2: 67-69.
 23. Hawley RJ, Scheibe RJ, Wagner JA. NGF induces the expression of the VGF gene through a cAMP response element. *J Neurosci* 1992; 12: 2.573-2.581.
 24. Sariola H, Saarma M, Sainio K, Aramae U, Palgi J, et al. Dependence of kidney morphogenesis on the expression of nerve growth factor receptor. *Science* 1991; 254: 571-573.
 25. Fuxe K, Agnati LF. Neurotropic factors and central dopamine neurons. *Neurosc Facts* 1992; 3: 81.
 26. Pechan PA, Chowdhury K, Seifert W. Free radicals induce gene expression of NGF and bFGF in rat astrocyte culture. *Neuroreport* 1992; 3: 469-472.
 27. Alleva E, Aloe L. Physiological roles of nerve growth factor in adult rodents: a biobehavioral perspective. *Int J Comparat Physiol* 1989; 2: 213-230.
 28. Spillantini MG, Aloe L, Alleva E, De Simone R, Goedert M, Levi-Montalcini R. Nerve growth factor mRNA and protein increase in hypothalamus in a mouse model of aggression. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86: 8.555-8.559.
-
- Alleva E, Aloe L. Nerve growth factor effects on the neuroendocrine system: a biobehavioral perspective. En: Lenfant C, Paoletti R, Albertini A (eds): *Growth Factors of the Vascular and Nervous Systems*. Int. Symp. on Biotech of Growth Factors. Milan, 1992 pp 80-86.