

Factores de crecimiento.

III. Factores transformadores del crecimiento (TGF)

JUAN GUILLERMO MALDONADO, HILDA NORHA JARAMILLO

Se presenta una revisión de los conceptos básicos sobre los factores transformadores del crecimiento, tanto alfa como beta, incluyendo los siguientes aspectos: consideraciones generales, estructura bioquímica, concentraciones, proteínas transportadoras, receptores, mecanismos de acción y efectos biológicos.

PALABRAS CLAVE

FACTORES DE CRECIMIENTO

TGF- α

TGF- β

RECEPTORES

INTRODUCCIÓN

Los factores transformadores del crecimiento (*Transforming Growth Factors, TGF*) tipos alfa y beta son un grupo de factores altamente conservado en la escala evolutiva. Poseen un amplio espectro de acción y se caracterizan por actuar como reguladores multifuncionales de la actividad celular. Dependiendo del tipo de célula sobre el cual actúan, estimulan o inhiben la diferenciación y la proliferación

celulares o bien estimulan la función celular especializada aumentando la síntesis de matriz extracelular y la producción de moléculas de superficie (1).

Los TGF fueron aislados inicialmente del sobrenadante de cultivo de células de ratón infectadas con el virus del sarcoma murino (2,3), luego de toda una gama de células normales (4) y neoplásicas (5). Se han purificado, clonado y secuenciado dos grupos distintos de factores: el alfa (TGF- α) y los beta (TGF- β), cada uno de los cuales ejerce su efecto fisiológico mediante sistemas propios de ligando-receptor (5).

FACTORES TRANSFORMADORES DEL CRECIMIENTO TIPO BETA (TGF- β)

Estructura química

Los TGF- β comprenden un grupo de polipéptidos relacionados funcional, estructural y evolutivamente. En el hombre se han aislado tres isotipos del factor,

DOCTOR JUAN GUILLERMO MALDONADO E., Investigador Asociado, Programa de Reproducción, Financiado por Colciencias (Proyecto 1115-05-040-91); DOCTORA HILDA NORHA JARAMILLO L., Profesora Titular, Departamento de Fisiología; ambos de la Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

todos ellos con un peso molecular de 25 KDa; dos de ellos, el TGF- β_1 y el TGF- β_2 están conformados por homodímeros de cadenas alfa y beta, respectivamente; los monómeros están unidos por puentes disulfuro. Por su parte, el TGF- β_3 es un heterodímero de cadenas alfa y beta (6).

Los TGF- β presentan una homología del 75% en su secuencia aminoacídica. La conservación interespecies del dominio activo del TGF- β_1 es virtualmente completa; el polipéptido es idéntico entre primates, bovinos, porcinos y aves; en todos ellos el sitio activo posee nueve residuos de cisteína (1). Los TGF- β del hombre y el ratón sólo difieren en un aminoácido, hecho que indica su alta conservación evolutiva y que, además, permite suponer que ejercen efectos similares en las diferentes especies animales (7).

Este grupo de polipéptidos está codificado en el humano por los genes de la superfamilia del TGF- β , localizados en los cromosomas 1, 14 y 19, la cual incluye los genes para: 1) los TGF- β_1 , 2 y 3, identificados en el hombre y el ratón; 2) las proteínas óseas morfogénicas 1, 2A, 2B y 3, con alta similitud entre los diferentes mamíferos (8); 3) los TGF- β_4 -8 de pollos y anfibios; 4) las inhibinas A y B, las activinas A, AB y B (6), la hormona anti-Mülleriana (9) y la dorsalina, esta última responsable de la diferenciación de las neuronas del asta dorsal. Los TGF- β son sintetizados como una gran molécula precursora de 112 residuos aminoacídicos; los gránulos de secreción contienen, además de la molécula precursora, dos proteínas asociadas: 1) una glucoproteína de 75 KDa, denominada proteína asociada de latencia (*Latency Associated Protein* o LAP), unida al precursor en forma no covalente; 2) una proteína de 135 KDa, denominada proteína moduladora de unión (*Modulator Binding Protein* o MBP) (10). La forma activa de los TGF- β se obtiene por ruptura de la molécula precursora ya sea por cambios de pH o tratamiento con proteasas (10).

Proteínas transportadoras

Numerosas sustancias fijan en el plasma los TGF- β , entre ellas: la α_2 -macroglobulina, el β -glucano, la decorina, el biglucano, la trombospondina, la α -feto-proteína y la proteína precursora de amiloide tipo beta (6). Igualmente, varias proteínas de la membrana celular fijan los TGF- β ; la más importante es el β -glucano (anteriormente considerado como el T β R-

III). Éste es un proteoglucano capaz de unirse con alta afinidad a las tres isoformas de los TGF- β ; se cree que es el responsable de presentar el ligando al T β R-II (11).

Receptores

Los receptores para los TGF- β , caracterizados en 1993, pertenecen a la superfamilia de receptores catalíticos con actividad de treonina-serina quinasa. Ellos transmiten la señal autofosforilando dominios catalíticos de proteínas heterodímeras; a diferencia de los receptores con actividad de tirosina quinasa, que activan dominios catalíticos en proteínas homodímeras (12,13). Se han identificado dos tipos de receptores de diferente peso molecular para los TGF- β : Receptor tipo-I (T β R-I) que es una glucoproteína constitutiva de la membrana celular, de 53 KDa, que consta de los siguientes segmentos: 1) el extracelular, grande, rico en cisteína, que fija con igual afinidad las tres isoformas del factor de crecimiento; 2) el transmembránico, simple, que cumple funciones de anclaje; 3) el citoplasmático, que posee dos dominios, el autocatalítico y el activador de la proteína G (*Protein-G Stimulator* o Gs) (11).

El receptor tipo II (T β R-II) de 75-85 KDa, con igual conformación que el anterior posee, además, un pequeño segmento de 43 aminoácidos rico en serina y treonina, anexo al extremo carboxiterminal; la cola, como suele denominarse a este segmento, es de marcada importancia en la transmisión de la señal del ligando (12).

Mecanismo de acción

Se ha establecido que para transmitir la señal de cualquier ligando de la superfamilia de los TGF- β , se requiere la presencia conjunta de los receptores tipo I y II, para formar un complejo terciario con el ligando. Al parecer, es necesaria la activación de los dominios autocatalíticos de cada uno de los receptores para dar inicio a la cascada de eventos enzimáticos de la fosforilación (11,12).

El T β R-I posee un dominio con actividad G_s encargado, al parecer, de estimular el factor nuclear tipo 1 (CTF), proteína asociada al DNA que, al unirse a secuencias específicas del genoma, promueve la transcripción génica. Así pues, promotores para di-

versos genes, entre ellos el gen del colágeno, son activados por el CTF (10).

Efectos biológicos

Los TGF- β son liberados, por la mayoría de las células que los producen, en forma de precursores inactivos, que requieren condiciones químicas especiales para su activación (acidificación, proteólisis, etc.); circulan unidos a proteínas transportadoras específicas que impiden su degradación (14). Se ha planteado que las condiciones requeridas para la activación de los TGF- β impiden la unión a su receptor en el aparato de Golgi, lo que hace imposible un efecto intracrina (13,15).

Los TGF- β son potentes inhibidores de la proliferación de células epiteliales, linfocitos T y B, células NK (*Natural Killer*) y células LAK (*Lymphokine-activated Killer Cells*) (16,17). Por el contrario, estimulan: 1) la diferenciación y proliferación de células de origen mesenquimatoso, especialmente de fibroblastos y osteoblastos; 2) la formación de matriz extracelular por fibroblastos, osteoblastos y células de Schwann (18); 3) la síntesis de moléculas de adhesión por células activadas del sistema inmune (17,19). Finalmente, actúan como reguladores de la respuesta inmune tanto celular como humoral (20).

Los TGF- β son mitogénicos para las células osteoblásticas; igualmente, incrementan la producción de fosfatasas alcalinas y de osteocalcina, sustancias indicadoras del fenotipo de los osteoblastos diferenciados (21). Además, estimulan la formación de la matriz ósea, tanto *in vivo* como *in vitro*. Al parecer, regulan las funciones de los osteoclastos (22). Dado que la matriz ósea es uno de los sitios de mayor depósito de los TGF- β , se considera que ellos desempeñan un papel importante en el remodelado óseo (23,24).

Los TGF- β inducen la proliferación y la quimiotaxis de los fibroblastos, optimizan la interacción de los receptores de vitronectina con la matriz extracelular y estimulan la producción, por parte de los fibroblastos y de los macrófagos, de procolágeno, glucosaminoglucanos, fibronectina, tenascina, metaloproteasas e inhibidores de proteasas, de tal forma que aumentan el proceso inflamatorio en la etapa inicial de la reparación tisular (14). En las tardías inducen, en los fibroblastos maduros, la producción de colágeno tipo III y de las proteinasas necesarias para el remodelado cicatricial (15,25-27).

Los TGF- β también estimulan la síntesis de DNA por las células de Schwann y aumentan su proliferación. El papel de estas células en la regeneración de los nervios periféricos es mediado, posiblemente, por los TGF- β (18). En las líneas tumorales derivadas de células de Schwann, muchas de las cuales expresan los oncogenes SV40-T y v-Ha-ras, se han encontrado altas cantidades del mRNA para los TGF- β , cuya producción excesiva induce la transformación neoplásica de estas células (18).

Los TGF- β estimulan la proliferación del endometrio y la decidua y regulan la capacidad proliferativa del trofoblasto (7,9,28,29); por lo tanto parecen preparar el útero para la implantación (19). Igualmente, ejercen un efecto modulador del crecimiento del blastocisto una vez éste logra el contacto con el endometrio materno (19,30) modulando, además, la respuesta inmune materna contra los antígenos fetales (28,29).

Los TGF- β desempeñan un papel determinante en los procesos de diferenciación embrionaria ejerciendo, posiblemente, un efecto promotor sobre los genes tempranos de la diferenciación (19).

Los TGF- β son potentes estimuladores de la producción de inmunoglobulina A (IgA) por las células de las placas de Peyer cultivadas *in vitro* y estimuladas con lipopolisacárido (LPS). Igualmente, estimulan la producción policlonal y la secreción de IgA por la mucosa intestinal, contribuyendo así a la integridad de esta línea de defensa primaria del organismo. Inhiben, por el contrario, la síntesis de IgA inducida por la IL-5 (20).

Los TGF- β , administrados a ratones por vía subcutánea, inducen una acumulación ordenada de las células que participan en la respuesta inflamatoria; el proceso se inicia con la llegada de las plaquetas, seguidas por los polimorfonucleares neutrófilos, los macrófagos, los linfocitos y, finalmente, los fibroblastos (14,31).

Los TGF- β son potentes factores quimiotácticos para los monocitos, los cuales sintetizan receptores de alta afinidad para aquéllos. Todos los leucocitos al ser activados, al igual que las plaquetas, sintetizan el factor y su respectivo receptor (31,32). Por su parte, los monocitos tratados con los TGF- β aumentan la transcripción génica para la interleuquina 1 (*Interleukin-1* o IL-1), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (*Platelet Derived Growth Factor* o PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (*Fi-*

broblast Growth Factor o FGF) y el factor de necrosis tumoral o TNF. Los TGF- β producidos por los leucocitos activados, al parecer, regulan la intensidad de la respuesta inflamatoria y facilitan la formación del tejido de granulación (16).

Es importante anotar que la sensibilidad de los monocitos y los macrófagos a los TGF- β disminuye en proporción con su grado de diferenciación. El macrófago es capaz de regular la síntesis de sus receptores para el factor, evento importante en el control de su migración al sitio de la lesión (17). A pesar de que los macrófagos de los estadios avanzados del proceso de reparación no responden al TGF- β , sí lo producen y éste, en altas concentraciones, inhibe la proliferación de las células T y B (26,33).

Los TGF- β antagonizan, aun en concentraciones femtomolares, los efectos estimulantes de la IL-1 en la proliferación de las células T. Este antagonismo, que puede ser más potente que el de la ciclosporina-A, evita una respuesta inmune prolongada que sería perjudicial para el organismo (27,34).

Los TGF- β regulan la diferenciación de los preadipocitos, mioblastos y precursores osteogénicos; su producción es alta en aquellos sitios del embrión donde ocurre morfogénesis intensa (condro y osteogénesis), lo que hace suponer que son importantes en los procesos de diferenciación embrionaria (11). Además, regulan la producción de matriz extracelular, la adhesión celular y las interacciones célula-célula (25).

FACTOR TRANSFORMADOR DEL CRECIMIENTO TIPO ALFA (TGF- α)

El TGF- α es un polipéptido pequeño, de 50 residuos aminoacídicos, que tiene alta homología estructural con el Factor de Crecimiento Epidérmico (*Epidermal Growth Factor* o EGF). Ambos comparten el 35% de los residuos aminoacídicos y poseen, además, los mismos residuos de cisteína. El gen que codifica el TGF- α está ubicado en el brazo corto del cromosoma 2 (35).

El TGF- α es secretado en forma de precursor -proTGF- α - con 160 aminoácidos. Éste consta de: 1) el dominio hidrofóbico de 23 aminoácidos, conocido con el nombre de secuencia de señal; 2) la secuencia activa del TGF- α , con 50 aminoácidos; 3) el segundo dominio hidrofóbico que sirve para el anclaje de la molécula en la membrana celular y que, además,

puede inducir la autofosforilación del receptor; 4) el dominio rico en cisteína, del extremo carboxi-terminal (1). Al parecer, el segundo dominio hidrofóbico no sólo proporciona una señal autocrina prolongada, sino que también sirve de reservorio del factor, cuando la célula necesita de un estímulo inmediato (1).

Concentración

El TGF- α se encuentra en altas cantidades en los tejidos fetales, en varias líneas de células tumorales, en la epidermis, en los macrófagos activados y en el sistema nervioso central. Dado que el tejido fetal no sintetiza EGF pero sí su receptor, se piensa que el TGF- α es la forma embrionaria del EGF (35).

Receptores

Hasta el momento no ha sido posible aislar un receptor específico para el TGF- α ; sin embargo, se asume que este ligando ejerce sus efectos al unirse al receptor para el EGF. Dado que los efectos del TGF- α y el EGF son muy similares, se cree que ambos ligandos se unen al mismo receptor, posiblemente, en sitios diferentes (1).

Mecanismo de acción

El precursor ejerce su efecto por sí solo en la célula blanco actuando de manera intracrina, de tal modo que su proteólisis, producida por la ruptura enzimática del dominio extracitoplasmático del pro-TGF- α , no es necesaria para sus efectos biológicos (35).

SUMMARY

GROWTH FACTORS. III PART: TRANSFORMING GROWTH FACTORS (TGF)

A review is presented on the basic concepts of Transforming Growth Factors both α and β ; it includes general considerations, biochemical structure, concentrations, binding proteins, receptors, mechanisms of action, and biological effects.

BIBLIOGRAFÍA

1. LYONS RM, MOSES HL. Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation. *Eur J Biochem* 1988; 187: 467-473.
2. DE LARCO JE, TODARO GJ. Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 1978; 75: 4.001- 4.005.
3. ROBERTS AB, LAMB LC, NEWTON DL, et al. Transforming growth factors: isolation of polypeptides from virally and chemically transformed cells by acid/ethanol extraction. *Proc Nat Acad Sci USA* 1980; 77: 3.494-3.498.
4. ROBERTS AB, ANZANO MA, LAMB LC, et al. New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from non-neoplastic tissues. *Proc Nat Acad Sci USA* 1981; 78: 5.339-5.343.
5. ANDRES JL, RONNSTRAND L, CHEIFETZ S, et al. Purification of the transforming growth factor- β (TGF- β) binding proteoglycan betaglycan. *J Biol Chem* 1991; 266: 23.282-23.287.
6. UNDERWOOD LE, VAN WYK JJ. Normal and aberrant growth. En: William's Endocrinology. 8 ed. Londres: 1992: 1.079-1.105.
7. SLAGER HG, LAWSON KA, VAN DEN EIJNDEN, VAN RAAIJ AJM, et al. Differential localization of TGF- β_2 in mouse preimplantation and early postimplantation development. *Develop Biol* 1991; 145: 205-218.
8. SAMPATH TK, COUGLIN JE, WHETSTONE RM, et al. Bovine osteogenic protein is composed of dimers of OP-1 and BMP-2A, two members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem* 1990; 265: 13.198-13.205.
9. GATHERER D, DIJKE PT, BAIRD DT, et al. Expression of TGF- β isoforms during first trimester human embryogenesis. *Development* 1990; 110: 445-460.
10. SPORN MB, ROBERTS AN, WAKEFIELD LM, et al. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 1987; 105: 1.039-1.045.
11. ATTISANO L, WRANA JL, LOPEZ-CASILLAS F, et al. TGF- β receptors and actions. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1222: 71-80.
12. MESSAGU J, ATTISANO L, WRANA JL. The TGF- β family and its composite receptors. *Trends Cell Biol* 1994; 4: 172-178.
13. WAKEFIELD LM, SMITH DM, MASUI T, et al. Distribution and modulation of the cellular receptor for transforming growth factor-beta. *J Cell Biol* 1987; 105: 965-975.
14. GROTDORST GR, GROTDORST CA, GILMAN T. Production of growth factors (PDGF & TGF- β) at the site of tissue repair. In: Growth factors and other aspects of wound healing: Biological and clinical implications. New York: Alan R. Liss Inc, 1988.
15. WHITE-NEEDLEMAN B, CHOI J, BURROWS-MEZU A, et al. Secretion and binding of transforming growth factor-beta by scleroderma and normal dermal fibroblast. *Arthr Rheum* 1990; 33: 650-656.
16. SASAKI H, POLLARD RB, SCHMITT D, SUZUKI F. Short analytical review: Transforming Growth Factor in the regulation of the immune response. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 65: 1-9.
17. WAHL SM, McCARTNEY-FRANCIS N, MERGENHAGEN SE. Inflammatory and immunomodulatory roles of TGF-beta. *Immunol Today* 1989; 10: 258-261.
18. RIDLEY AJ, DAVIS JB, STROOBANT P, et al. Transforming growth factors- β_1 and β_2 are mitogens for rat Schwann cells. *J Cell Biol* 1989; 109: 3.419-3.424.
19. TAMADA H, McMASTER MT, FLANDERS KC, et al. Cell type-specific expression of transforming growth factor- β_1 in the mouse uterus during the periimplantation period. *Molec Endocrinol* 1990; 4: 965-972.
20. CHEN SS, QING L. Transforming growth factor-beta $_1$ is a bifunctional immune regulator for mucosal IgA responses. *Cell Immunol* 1990; 128: 353-361.
21. PFEILSCHIFTER J, OECHSNER M, NAUMANN R, et al. Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet derived growth factor, and transforming growth factor-beta. *Endocrinol* 1990; 127: 69-75.
22. LOMBRI A, MARIE PJ. Bone cell responsiveness to transforming growth factor β , parathyroid hormone, and prostaglandin E2 in normal and postmenopausal osteoporotic women. *J Bone Min Res* 1990; 5: 1.149-1.155.
23. PFEILSCHIFTER J, WOLF O, NAUMANN A, et al. Chemotactic response of osteoblast-like cells to transforming growth factor β . *J Bone Min Res* 1990; 5: 825-830.
24. CHENU C, KURIHARA N, MUNDY GR, et al. Prostaglandin E2 inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human bone marrow cultures but is not a mediator of the inhibitory effects of transforming growth factor-beta. *J Bone Min Res* 1990; 5: 677-681.
25. ROBERTS AN, SPORN MB, ASSOIAN RK, et al. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4.167-4.171.
26. QUAGLINO D, NANNEY LB, KENNEDY R, et al. Transforming growth factor- β stimulates wound healing and modulates extracellular matrix gene expression in pig skin. *Lab Inv* 1990; 63: 307-319.
27. FINESMITH TH, BROADLEY KN, DAVIDSON JM. Fibroblast from wounds of different stages of repair vary in their ability to contract a collagen gel in response to growth factors. *J Cell Physiol* 1990; 144: 99-107.
28. GRAHAM CH, LALA PK. Mechanism of trophoblast invasion in situ. *J Cell Physiol* 1991; 148: 228-234.
29. GRAHAM CH, LYSLAK JJ, McCRAE KR, et al. Localization of transforming growth factor- β at the human fetal-maternal interface: role of trophoblast growth and differentiation. *Biol Reprod* 1992; 46: 561-572.
30. CLARK DA, FLANDERS KC, BANWATT D, et al. Murine pregnancy decidua produces a unique immunosuppressive molecule related to transforming growth factor β_2 . *J Immunol* 1990; 144: 3.008-3.014.
31. CARTER DM, BALIN AK, GOTTLIEB AB, et al. Clinical experience with crude preparations of growth factors in healing of chronic wounds in human subjects. In: Growth factors and other aspects of wound healing: Biological and clinical implications. New York: Alan R. Liss Inc, 1988.
32. LEIBOVICH SJ, WISEMAN DM. Macrophages, wound repair and angiogenesis. In: Growth factors and other aspects of wound healing: Biological and clinical implications. New York: Alan R. Liss Inc, 1988.
33. BALKWILL FR, BURKE F. The cytokine network. *Immunol Today* 1989; 10: 299-303.
34. LEFFER ML, TSAO P, AOKI N, et al. Mediation of cardioprotection by transforming growth factor-beta. *Science* 1990; 249: 61-63.
35. PETRIDES PE, BOCK S, BOVENS J, et al. Modulation of pro-epidermal growth factor, pro-transforming growth factor α and epidermal growth factor receptor gene expression in human renal carcinomas. *Cancer Res* 1990; 50: 3.934-3.939.