

## LOS FACTORES DE CRECIMIENTO. ASPECTOS BÁSICOS Y POTENCIALIDADES TERAPÉUTICAS.

CG Barbeito<sup>1, 2</sup>, PF Andrés Laube<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología. Investigador del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). <sup>2</sup>Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

**RESUMEN:** Los factores de crecimiento forman un grupo de macromoléculas polipeptídicas, que presentan acciones específicas y potentes sobre la regulación de la proliferación, la muerte, la motilidad y la diferenciación de células competentes. Desde la perspectiva de la fisiología celular, los factores de crecimiento son primeros mensajeros que interactúan sobre receptores glicoproteicos de membrana que transducen la señal generando una cascada de reacciones que termina en la regulación de ciertos factores de transcripción y por lo tanto de la expresión génica. Su mecanismo de secreción más frecuente es paracrino o autocrino, y solo ocasionalmente es endocrino. Existen numerosas familias de factores de crecimiento que durante el último cuarto de siglo dominaron el paradigma sobre el control del crecimiento tisular. En la actualidad, el principal uso médico de los factores de crecimiento y sus receptores es la marcación mediante inmunohistoquímica de tejidos tumorales para realizar diagnósticos y, de ser posible, establecer pronósticos. Sin embargo sus potenciales aplicaciones terapéuticas son muy amplias y quizás en un futuro cercano sean sustancias indispensables en la industria farmacéutica. El principal objetivo de la presente revisión es presentar estas sustancias a profesionales y estudiantes del área biomédica no especialistas en biología celular.

**Palabras Clave:** Proliferación celular, Diferenciación celular, muerte celular, ontogenia

## GROWTH FACTORS. BASIC CONSIDERATIONS AND POTENTIAL THERAPEUTICS

**ABSTRACT:** Growth factors are a group of polypeptidic molecules. In general, they have low MW and they show specific and powerful actions in the regulation of target cells proliferation, death and motility. From cellular physiology's point of view, the growth factors are first messengers that bind membrane receptors, which translate the sign causing a reactions' cascade. It finishes in the regulation of some kinds of transcription factors and therefore in the genetic expression. Usually, these receptors are tyrosine kinases. Their secretion mechanism is frequently paracrine or autocrine, and occasionally it is endocrine. There are a lot of growth factors families, where these substances are joined. During the last fifty years, the growth factors have taken the main role in the paradigm to explain the tissue growth. Nowadays, the main use of the growth factors and their receptors, in medicine, is the determination through immunohistochemistry of tumour tissues, in order to make diagnostics, and, if possible, prognostics. However, their potential therapeutic applications are very vast, and, in a near future, they will be essential substances in the pharmaceutical industry. The main aim of this review is to show growth factors to biomedical graduates and students who are not specialists in cell biology.

**Key Words:** Cell proliferation, cell differentiation, cell death, ontogeny.

Fecha de recepción: 25/06/05

Fecha de aprobación: 01/07/05

**Dirección para correspondencia:** CG Barbeito, Cátedra de Patología General. C.C. 296, (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

**E-mail:** barbeito@fcv.unlp.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

Los factores de crecimiento (FC) son primeros mensajeros que se unen a receptores glicoproteicos de membrana para iniciar la transducción de una señal. Los FC alcanzan acciones fisiológicas a menor concentración que otros mensajeros como las hormonas, además poseen una variedad mayor de células blanco que estas y, al no requerir de un sistema circulatorio desarrollado para actuar, las preceden tanto en la ontogenia como en la filogenia. Hoy se sabe que procesos como la inducción embrionaria, la diferenciación, la muerte y la motilidad celular, están regulados por los citados péptidos. En los últimos años comenzaron a investigarse gran cantidad de usos terapéuticos potenciales para estos factores, por lo que en un futuro inmediato serán sustancias de gran importancia farmacológica. La presente revisión tiene como objetivo presentar al médico veterinario, y a otros profesionales no especialistas, estas sustancias.

## ACCIONES Y PROPIEDADES GENERALES

Los FC poseen acciones múltiples, por ejemplo el TGF $\beta$  que puede ser mitógeno para los fibroblastos, es el inhibidor más potente de la proliferación epitelial. Incluso factores como EGF, de importante actividad estimulante sobre la proliferación de numerosas poblaciones celulares, pueden ser inhibidores de la misma si se modifican las condiciones experimentales. Pese a que los FC se asocian con frecuencia a mecanismos locales de transmisión de mensajes celulares, algunos de ellos son transportados por sangre; por ejemplo IGF, PDGF y TGF $\beta$  poseen formas latentes que se unen a algunas proteínas séricas y a los gránulos plaquetarios. Otros factores como los FGFs interaccionan con componentes de la matriz, lo que favorece la creación de un microambiente especial para su acción (1, 2, 3).

Algunos factores como el PDGF, se denominan "de competencia" porque actúan en el pasaje de la etapa G<sub>0</sub> a la G<sub>1</sub> del ciclo celular. Otros, como EGF e IGF son "de progresión" porque desencadenan la transición entre las etapas G<sub>1</sub> y S. Ningún factor de crecimiento actúa después que la célula paso el punto de restricción y comienza a sintetizar ADN (3). Como ya se mencionó, los efectos de los FC no se limitan a la regulación de la proliferación celular, algunos de ellos modifican la motilidad, la proliferación y la muerte celular (5).

## MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FC

Por lo general, los receptores de los FC son enzimas que catalizan la fosforilación de las proteínas en tirosina, por lo que se las denomina quinasas de tirosina (TK). Los receptores para la mayoría de los miembros de la superfamilia del TGF $\beta$ , también son quinasas pero en serina y treonina (2, 3, 5). Las TK inician reacciones en cascada, que además son ramificadas. Por lo general, la unión entre receptor y ligando lleva a la autofosforilación y activación de la enzima receptora. El receptor activado se une a proteínas citoplasmáticas que inician una cascada, que culmina con la fosforilación de proteínas como las quinasas del grupo MAP, que a su vez fosforilan factores de transcripción cuya activación determina que se modifique la expresión de ciertos genes, última etapa de la serie de reacciones. En la figura 1 se representa el mecanismo de acción del EGF, que se utiliza como modelo. En algunos casos los FC actúan mediante otros mecanismos de señalización (1).

A continuación se describen algunas de las principales familias de factores de crecimiento, se excluyen la familia de los factores de necrosis tumoral, por tener más relación con las citoquinas que con los demás FC y la familia de las neurotrofinas, por la especificidad de sus funciones.

## FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO

Esta familia incluye a EGF, TGF $\alpha$ , Int 2, *Vaccinia growth factor*, anfiregulina, beta regulina y la subfamilia de las neuregulinas (1). Recientemente se encontró un grupo de proteínas similares a estos factores, que están relacionadas con la diferenciación celular.

El EGF es una molécula de 53 aminoácidos con un PM de 6 KDa, que en un tiempo se llamo urogastrona. La homología entre el EGF y el TGF $\alpha$  es de un 55%, y sus acciones biológicas son semejantes, ya que se unen al mismo receptor. El EGF se aisló por primera vez de la glándula submaxilar y el primer efecto conocido fue el estimulante sobre la erupción dentaria y la apertura de los párpados (1, 6). La expresión del gen del receptor para EGF es abundante en los epitelios y varía con el sexo, la edad y la hora del día (7). Por lo general el EGF actúa mediante mecanismos paracrinos y el TGF $\alpha$  mediante señalización autocrina (8, 9). El receptor para EGF y TGF $\alpha$  es c-ErbB o EGFR, una TK transmembrana. c-ErbB es un

Tabla 1. Clasificación general.

Table 1. General classification.

<b>CLASIFICACIÓN GENERAL DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO</b>	
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO (EGF):</b>	*Factor de Crecimiento Epidérmico *Factor de Crecimiento Transformante Alfa (TGF $\alpha$ ) *Factor de Crecimiento de Unión a Heparina Semejante a EGF (HB-EGF) *Anfiregulina *Cripto-1 *Betacelulina * <i>Vaccinia Growth Factor</i> <b>SUBFAMILIA DE LAS NEUREGULINAS:</b> *Factor de Diferenciación NEU (NDF) *Heregulina *Factor de Crecimiento Glial *Inductor de la actividad del receptor de acetilcolina
<b>FAMILIA DE LAS SOMATOMEDINAS O FACTORES DE CRECIMIENTO SEMEJANTES A LA INSULINA (IGFs):</b>	*Factor de Crecimiento Semejante a la Insulina I *Factor de Crecimiento Semejante a la Insulina II
<b>FAMILIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS (PDGF):</b>	*Factores de Crecimiento Derivados de Plaquetas A, B, AB, C y D *Factor de Crecimiento del Tejido Conectivo * <i>Steel</i> o Factor de Crecimiento para Mastocitos o Factor de Crecimiento para <i>stem cells</i> (SCF)
<b>FAMILIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO PARA FIBROBLASTOS (FGFs):</b>	*Factor de Crecimiento para Fibroblastos 1 o Ácido *Factor de Crecimiento para Fibroblastos 2 o Básico *Factores de Crecimiento para Fibroblastos 3-6 y 8 a 23 *Factor de Crecimiento para Queratinocitos (KGF) o FGF7
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO PARA HEPATOCITOS (HGF) O FACTOR SCATTER (SF):</b>	*Factor de Crecimiento para Hepatocitos
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR (VEGF):</b>	*Factores de Crecimiento del Endotelio Vascular A, B, C, D, E *Factor de Crecimiento Placentario (PlGF)
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL DERIVADO DE GLÁNDULAS ENDOCRINAS (EG-VEGF)</b>	* Factor de Crecimiento Endotelial Derivado de Glándulas Endocrinas
<b>FAMILIA DE LAS ANGIOPOYETINAS</b>	*Angiopoyetinas 1 y 2 (Ang 1 y Ang 2)
<b>FAMILIA DE LAS EFRINAS</b>	*Efrinas B2 y B4 (Eph B2 y B4)
<b>SUPERFAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF<math>\beta</math>):</b>	
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF<math>\beta</math>)</b>	*Factores de Crecimiento Transformante Beta 1-5
<b>FAMILIA DE LAS ACTIVINAS E INHIBINAS:</b>	*Activinas *Inhibinas
<b>FAMILIA DE LA SUSTANCIA INHIBIDORA DE MÜLLER (MIS):</b>	*Sustancia Inhibidora de Müller
<b>FAMILIA DEL DECAPENTAPLÉGICO (DPP):</b>	*Proteínas Morfogénicas de Hueso (BMPs) *Growth and Differentiation Factors (GDFs) *Decapentaplégico
<b>FAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE LA GLIA (GDNF):</b>	*Factor de Crecimiento Derivado de la Glía
<b>FAMILIA DE NODAL:</b>	*Nodal

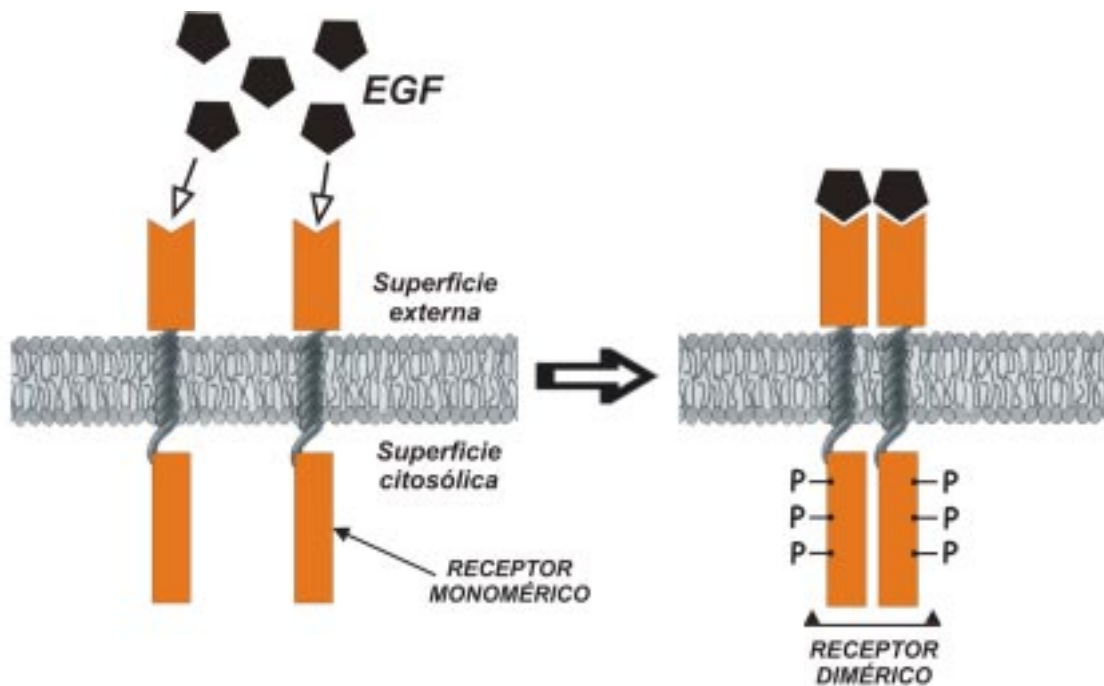


Figura 1. Mecanismo de acción del EGF. Al unirse al ligando, se dimeriza el receptor y cada una de las cadenas del mismo fosforila a la otra (transfosforilación).  
 Figure 1. Mechanism of action of EGF. The receptor binds to EGF, it dimerizes and each one of the chains phosphorylates the other (transphosphorylation).

prooncogeno semejante al v-ErbB, encontrado en el virus de la eritroblastosis aviar. La versión v-oncogénica del receptor carece del dominio de unión al ligando por lo que se activa en forma constitutiva (1).

*In vitro* EGF y TGF $\alpha$  estimulan la proliferación de poblaciones epiteliales tales como hepatocitos y células de los túbulos renales. *In vivo*, la administración de EGF a ratones incrementó la proliferación de: epitelio de las criptas intestinales y esófago, hígado, páncreas y riñón (8). El tratamiento de ratones y ratas con EGF produjo, un descenso significativo del peso corporal. En ratas, además, genera pelaje rugoso, hipoactividad, deshidratación y muerte (10). El tratamiento de ratones adultos con TGF $\alpha$  eleva la ADNs en los epitelios de lengua, pulmón, esófago, estómago glandular y aglandular; este efecto tiene dependencia de los ritmos circadianos (8). En ratones con el gen de TGF $\alpha$  sobre-expresado, se incrementa la proliferación de hepatocitos y queratinocitos (11). En ratas, que recibieron durante 14 días el factor en forma endovenosa, se observó hiperplasia de la mucosa gástrica, epitelio del intestino delgado y grueso, conductos de las glándulas salivales, epitelio lingual, esmalte dentario, epitelio traqueal, epitelio del conducto nasolagrimal, urotelio de la vejiga, próstata y pelvis, epitelio de la mucosa nasal, epitelio de los tubos colectores, células del tejido conjuntivo de las válvulas cardíacas. Además,

se encontraron alteraciones como incremento del número de cuerpos lúteos, hipertrofia hepatocelular, descenso de la hematopoyesis esplénica, hiperplasia perineural en el nervio ciático, edema y fibrosis de mucosa gástrica e hipertrofia hepatocelular. Estos efectos fueron dosis dependiente y también presentaron dimorfismo sexual, ya que en los machos fueron más marcados (10). Sobre la epidermis los ligandos de EGFR (EGF, TGF $\alpha$  y anfiregulina), estimulan la proliferación queratinocítica. El uso de anticuerpos contra EGFR inhibe las mitosis epidérmicas. Algunos experimentos demostraron que un exceso de estos factores puede llevar a una diferenciación aberrante de los queratinocitos. Los animales transgénicos nulos para el gen del EGFR murieron poco tiempo después del nacimiento, presentando una gran variedad de alteraciones cutáneas. Cuando se utilizaron ratones transgénicos con un receptor mutante, que no es capaz de ligar a EGF pero si de homodimerizarse e incluso heterodimerizarse, la epidermis se tornó hiperplásica con gran intensidad de proliferación y de respuesta a la inflamación. Estos últimos resultados concuerdan con el hallazgo de que el gen de TGF $\alpha$  esté sobre-expresado en la psoriasis humana. (12).

Durante el desarrollo, estos factores son fundamentales desde las etapas iniciales. El EGF de origen materno es necesario para la

formación del saco vitelino y el TGF $\alpha$  embrionario es indispensable para el desarrollo del metanefros (13). El EGF también interviene en la neurogénesis temprana (14). La administración de anticuerpos anti-EGF incrementó el número de abortos. Al inicio de la vida postnatal, el factor que llega al neonato por la leche materna es necesario para eventos tales como la erupción dentaria y la apertura de los párpados.

En la regeneración hepática post-hepatectomía, intervienen tanto el TGF $\alpha$ , que actúa por vía autocrina, como el EGF que es producido por las glándulas de Brunner y llega al órgano a través de la vena porta (15). En lesiones gástricas, estos factores estimulan primero una reepitelización rápida promoviendo los movimientos y los cambios de forma en las células y posteriormente una lenta, estimulando la proliferación celular del epitelio gástrico. La aplicación local en heridas cortantes cutáneas de EGF recombinante humano mejora la reepitelización (12).

El EGF es mitógeno para la mama normal y está involucrado en la oncogénesis mamaria. Los animales que sobre-expresan EGF en la glándula submaxilar (y por lo tanto tienen un elevado nivel plasmático del factor) desarrollan tumores mamarios. Esta observación coincide con aquella encontrada en neoplasias mamarias humanas, en las que la sobre-expresión del EGFR se asocia con un pronóstico poco alentador (1).

Las neuregulinas constituyen un grupo de sustancias de la familia del EGF, que se forman por procesamiento alternativo de un único gen ubicado en el hombre en el cromosoma 8. Este grupo incluye al factor de diferenciación NEU (NDF), a la heregulina, al factor de crecimiento glial y al inductor de la actividad del receptor de acetilcolina. Estos factores se unen al receptor Her-2/Neu e inducen su fosforilación en tirosina y consecuente activación (1). Las neuregulinas intervienen en el desarrollo nervioso y cardíaco. Los ratones nulos para los genes de estos factores o sus receptores mueren durante el desarrollo prenatal con graves anomalías en el corazón (16). La sobre-expresión de sus receptores en tumores mamarios, también se asocia con mal pronóstico (1). El tratamiento con NDFa2 de heridas cutáneas favorece la reepitelización y engrosa la epidermis, sin incrementar la ADN, pero estimulando la expresión de algunos marcadores epiteliales como filagrina, citoqueratinas e integrinas (17).

## FAMILIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO SEMEJANTES A INSULINA

Estas sustancias actúan como mediadores de las acciones de la hormona del crecimiento (GH), por lo que durante años se las denominó somatomedinas. Posteriormente se las incluyó dentro de los FC y, por sus semejanzas estructurales y funcionales con la insulina, se les otorgó la denominación de IGFs. Hoy se conocen dos IGFs (I y II) cuyas moléculas son semejantes a la de insulina, pero de tamaño algo mayor (7.5 KDa) (18, 19).

Los niveles séricos de los IGFs se originan por la producción hepática; los tisulares obedecen a la sumatoria de factores liberados por mecanismos paracrinos y autocrinos, además de aquellos derivados de la síntesis hepática. Por ejemplo, en el hueso el IGF-I es producido tanto por los osteoblastos como por el estroma de la médula ósea. La producción hepática es regulada por la hormona de crecimiento, pero la de otros órganos es coordinada mediante señales múltiples. Existen dos receptores para IGFs; el primero de ellos (IGFR-I) es una TK heterodimérica muy semejante al receptor de insulina. El IGFR-II es el receptor de manosa 6P, típico de los lisosomas, y se une con mayor afinidad a IGF-II. La función de este último como receptor para los IGFs es exclusiva de los vertebrados y sólo sería indispensable durante el desarrollo prenatal. IGFR-II no posee acción TK. Las IGFbps, de las cuales la más importante es la IGFbfp-3, son proteínas que se unen a los IGFs y los regulan. Además, las IGFbps poseen acciones independientes de los IGFs (18, 19). En la figura 2 se representan las relaciones del IGF-I con su receptor y con las IGFbps.

*In vitro* se demostró que los IGFs son factores de progresión, que para ejercer efectos mitogénicos requieren de la acción previa de factores de competencia como PDGF que eleva la concentración del IGFR-I en las células. En cultivos celulares, estos factores incrementan la proliferación de condrocitos, osteoblastos, miocitos lisos, células del epitelio de túbulos contorneados proximales, queratinocitos, astrocitos, etc. Además, impiden la entrada en apoptosis de células hematopoyéticas y estimulan la diferenciación de mioblastos y osteoblastos (18, 19).

*In vivo* los IGFs son los mediadores de muchas de las acciones de la GH y reemplazan la mayoría de los efectos de la hormona cuando se los administra en ratas hipofisectomizadas. En el hueso, estimulan tanto la

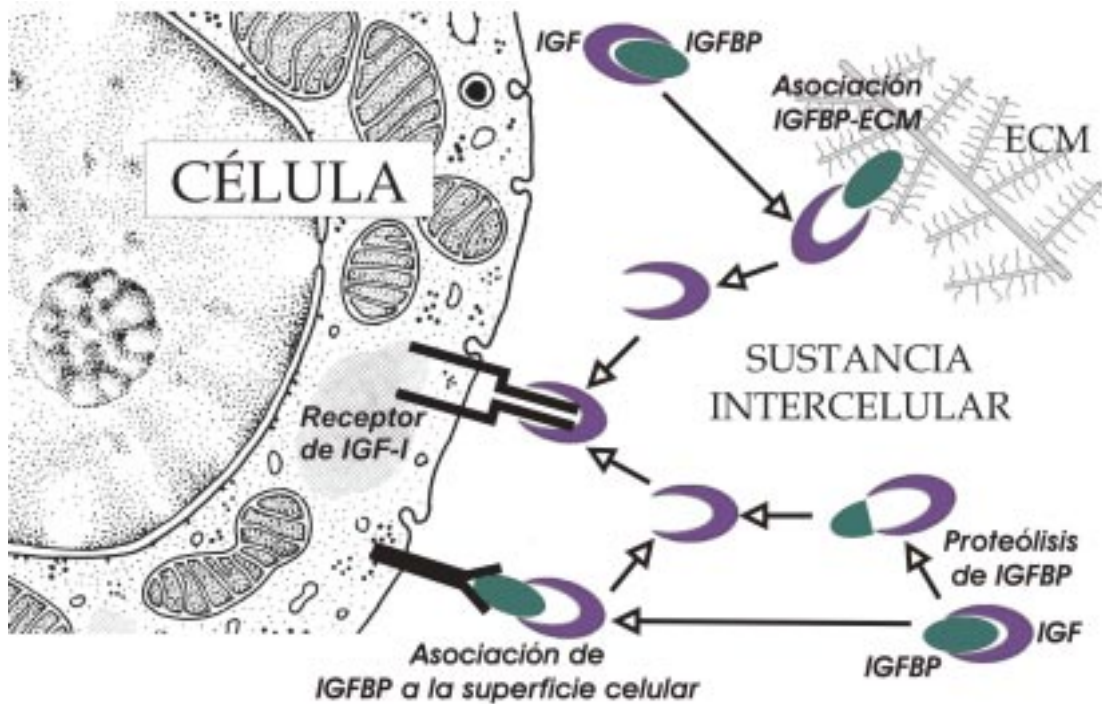


Figura 2. Asociación entre las proteínas de unión a IGF (IGFBP), la matriz extracelular (ECM) y la superficie celular.

Figure 2. IGF Binding Protein (IGFBP) association with cell surface and extracellular matrix (ECM).

resorción, como la síntesis de matriz y la proliferación osteoblástica. El IGF-I produce hipoglucemia por estimular la captación periférica de glucosa e inhibir la liberación hepática de la misma. El factor también posee efectos anabólicos en modelos de caquexia por hiponutrición, por falla renal, o por tratamiento con corticoides (18, 19). Los IGFs y las IGFBP sintetizados por la placenta y el endometrio intervienen en diversos procesos incluida la implantación (20).

El tratamiento con IGFs, en especial con IGF-II, estimula el crecimiento de casi todos los órganos embrionarios. En el desarrollo del paladar los IGFs serían inductores paracrinos producidos por el mesénquima. Los IGFs estimularían la fusión del epitelio de los esbozos palatinos y la osificación intramembranosa de los huesos palatinos (18, 19). También son importantes para la formación del epitelio de los esbozos de los miembros y en la morfogénesis renal (21). En el intestino delgado, IGF-II mantiene el estado indiferenciado de las células troncales o *stem cells*, mediante un mecanismo autocrino (18).

Los IGFs tienen diversas acciones tróficas sobre el sistema nervioso, por ejemplo, limitan la pérdida neuronal que sigue a la isquemia. El descenso en la producción de hormona del crecimiento y en la concentración de IGFR-I se asocia con los cambios en la cir-

culación encefálica y en la actividad cerebral que ocurren durante el envejecimiento. El tratamiento con IGF-I en el ventrículo lateral de animales viejos, mejora la memoria, posiblemente por prevenir las alteraciones seniles en la expresión de receptores glutaminérgicos (22). En el riñón las acciones de estos factores son variadas, intervendrían tanto en los procesos regenerativos como en la organogénesis. En algunos modelos de lesión renal, el uso del factor mejora la recuperación (13).

En cuanto a su relación con el origen y la progresión de tumores, se sabe que en el estroma de tumores mamarios se incrementa la producción de IGF-II. Pese a que estos factores no son oncogénicos, la sobre-expresión de IGF-II es necesaria para la hepatocarcinogénesis que ocurre en los animales transgénicos que sobre-expresan  $TGF\alpha$  (11). También se relaciona IGF-II con el desarrollo de carcinomas tiroideos y del tumor de Willms del hombre (19).

El uso terapéutico de IGF-I está indicado, en el hombre, en ciertas formas de diabetes resistente a la insulina y en el síndrome de Laron, una forma extraña de enanismo hipofisiario (18, 19). Además se están realizando ensayos clínicos para evaluar su posible aplicación para impedir cambios neurodegenerativos durante el envejecimiento (22).

## FAMILIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS

El PDGF fue aislado en 1974, a partir de los gránulos alfa de las plaquetas sanguíneas. En la actualidad la familia incluye a los 5 isotipos de PDGF (AA, BB, AB, C y D) y al factor de crecimiento para *stem cells* (SCF) o *steel*. Además, este grupo está estructuralmente relacionado con la familia del VEGF. Los receptores para PDGF (PDGFR) son TK diméricas que poseen cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ . La unión ligando-receptor inicia una cascada de reacciones que culmina con la activación de factores de transcripción como c-fos y c-myc (22, 23).

*In vitro*, el tratamiento con PDGF estimula la proliferación y detiene la diferenciación de células tan diversas como miocitos del músculo liso y células de Ito. Entre las acciones del factor *in vivo* se destaca su intervención en procesos de regeneración y reparación. El PDGF interviene en la regeneración que sigue a la distrofia muscular. En ratones adultos las fibras musculares regenerantes contienen mucho más PDGFR que las normales. También podría intervenir en la regeneración y reparación cutánea, ya que el tratamiento local de heridas cortantes con este factor estimula la proliferación celular dérmica y la síntesis de tejido de granulación. En un modelo de cerdos con quemaduras, la aplicación local de PDGF-BB incrementó la aparición de tejido de granulación y el desarrollo de matriz extracelular, no actuando en cambio sobre el epitelio. Cuando se administró a los cerdos PDGF junto a KGF, ambos factores manifestaron una acción sinérgica. Se considera que en la cicatrización de heridas el factor actúa en múltiples etapas. Su acción incluye efectos mitogénicos y quimiotácticos sobre fibroblastos y músculo liso, quimiotaxis de macrófagos y neutrófilos, inducción de la síntesis de otros FC por parte de los macrófagos y estimulación de la síntesis de moléculas de matriz como colágeno, ácido hialurónico, fibronectina y proteoglicanos. Además, el PDGF estimula la producción de colagenasa, enzima que intervendría en la remodelación tisular. En las heridas el factor es producido por macrófagos, queratinocitos, fibroblastos, músculo liso arterial y endotelio (23, 24).

En el riñón el factor está implicado en el incremento de células intersticiales, miofibroblastos, fibroblastos y mesangio, y en el aumento de la actividad fibrogénica en el órgano. En el hígado, también podría intervenir en la patogenia de las alteraciones crónicas como la cirrosis, ya que activa la transformación de

los lipocitos en miofibroblastos productores de colágeno. En la cirrosis, se determinó que existe una relación directa entre el grado de la lesión fibrótica (expresado como concentración de colágeno III) y los niveles del receptor de PDGF (25). También interviene en la patogenia de enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis humana y la filariasis canina. El factor liberado por las plaquetas determina un incremento en la proliferación de células musculares lisas, especialmente en la íntima del vaso (26).

Sus acciones en el sistema nervioso parecen ser múltiples, se cree que el PDGF producido por las neuronas actuaría en forma paracrina sobre la supervivencia y proliferación de células de la glía y de Schwann, pues la glía posee PDGFR y el PDGF-A se expresa en las neuronas poco antes del comienzo de la migración y proliferación glial. La migración de astrocitos a través del nervio óptico del primer día de vida postnatal en roedores se inhibe cuando se trata a los animales con anticuerpos anti-PDGFR $\alpha$ . Se observó, además, que los ratones que sobre-expresan el factor presentan hiperplasia de astrocitos en los ganglios vertebrales (23).

Los PDGFs están relacionados con la regulación del crecimiento de algunos tumores. Deben destacarse en especial sus acciones como estimulantes autocrinos en neoplasias de músculo liso. Además, estos factores estimulan la angiogénesis tumoral (25).

Los animales nulos para PDGF-B o PDGFR $\beta$  padecen severas anormalidades cardiovasculares y hemorragias en distintos órganos, además de un desarrollo glomerular anormal, con pérdida del mesangio. Estos mutantes negativos para PDGF-B por lo general mueren en estadios avanzados de la gestación, aunque ocasionalmente pueden nacer. La importancia de este factor en el desarrollo parece limitarse a vasos y megacariocitos, siendo alta la expresión del mismo en el endotelio de los capilares inmaduros y de las arterias en crecimiento. Los animales noqueados o nulos para el factor carecen de pericitos. Aparentemente TGF $\alpha$  induce que las células mesenquimáticas se transformen en precursores de pericitos, sobre los que PDGF-BB estimularía la actividad mitótica. El mesangio es una diferenciación especial de los pericitos, por lo tanto su desarrollo también se ve afectado en los ratones *knock-out* para el factor. Como el mesangio induce la ramificación típica de los vasos glomerulares, los noqueados para PDGF o su receptor no desarrollan glo-



mérulos típicos y el espacio de Bowman está ocupado por un solo capilar dilatado. Una lesión semejante ocurre en la placenta laberíntica del ratón al modificarse los pericitos placentarios. Existen diferencias entre los mutantes para PDGFR $\alpha$  y PDGF-A. Mientras que la mayoría de los animales nulos para el receptor mueren entre los días 8 y 16, con lesiones como espina bífida y fallas cardíacas; los nulos para PDGF-A no poseen estas alteraciones y si bien pueden morir durante el desarrollo, por lo general sobreviven algunas semanas. Los animales nulos para el receptor poseen defectos en la metamerización por presentar alteraciones en las somitas. Los animales nulos para el factor poseen anomalías en los folículos pilosos, pérdida de músculo liso en pulmón con enfisema alveolar, anomalías de vellosidades intestinales, pérdida de células de Leydig y de oligodendrocitos cerebrales. PDGF-C liga al receptor  $\alpha$  por eso los noqueados para este isotipo son semejantes a los deficientes en PDGF-A (24).

### **STEEL O FACTOR DE CRECIMIENTO PARA MASTOCITOS O FACTOR DE CRECIMIENTO PARA STEM CELLS (SCF)**

El factor de crecimiento para *stem cells* es necesario para el mantenimiento de células primordiales germinativas *in vitro* y de melanocitos *in vivo*. El factor es producido por células epiteliales, glóbulos blancos y fibroblastos (en especial miofibroblastos). Su receptor es el producto del protooncogen c-Kit, una proteína de membrana con un dominio TK, semejante a PDGFR, que se dimeriza para su activación. Los animales homocigotas con c-Kit noqueado mueren en el útero, los heterocigotas manifiestan anomalías en la motilidad intestinal. Los mutantes dobles negativos para *steel*, también mueren *in utero*, pero con anemia. Ciertos mutantes con el factor anormal desarrollan trastornos de la contractilidad intestinal. La aplicación de anticuerpos anti-Kit genera anomalías de la pigmentación. El factor también es necesario para la migración de las células primordiales germinativas. En la hematopoyesis, *steel* tiene un rol estimulante, sobre el precursor eritroide con un efecto sinérgico al de la eritropoyetina. En roedores, se demostró la importancia de este factor en la espermatogénesis, ya que el tratamiento con anticuerpos anti-*steel* disminuye la proliferación de las espermatogonias A e incrementa la entrada en apoptosis de espermatogonias y espermatocitos primarios. A diferencia de lo observado en roedores, en el hombre son más importantes las funciones del factor en la melanogénesis y en la

hematopoyesis que las relacionadas con la fertilidad (27).

c-Kit se expresa en una variedad especial de miofibroblastos del tracto gastrointestinal: las células intersticiales de Cajal, que conectan las fibras nerviosas y el músculo liso, y funcionan como marcapaso del músculo intestinal para la regulación de las ondas lentas (28). El tratamiento con anticuerpos contra Kit, en los primeros días de la vida, determina la pérdida de la red normal de células intersticiales de Cajal (29). Actualmente Kit se utiliza como marcador específico para tumores de estas células y permite diferenciarlos de otras neoplasias no epiteliales del aparato digestivo (30). Se demostró que las células de Cajal y algunos miocitos del tubo gastrointestinal tienen un origen común, si el factor que interviene es *steel* la diferenciación es hacia el primer tipo celular y si es PDGF es hacia el segundo (29).

### **FAMILIA DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICOS**

Pese a que la existencia de estos mitógenos se demostró experimentalmente en la década de 1940, el aislamiento de los mismos recién se produjo en 1984 a partir de extractos de hipófisis bovina que demostraron ser mitógenos para fibroblastos primarios en cultivo. FGF-1 o FGFa (ácido) y FGF-2 o FGFb (básico) fueron los primeros miembros de la familia caracterizados. Posteriormente se reconocieron otros miembros de la familia, de los cuales únicamente el FGF7 o KGF se encontró en los tejidos de mamíferos adultos. Los factores restantes fueron identificados a partir de oncogenes y su aparición normal solo se limitaría a ciertos momentos del desarrollo embrionario. Actualmente se considera que la familia comprende en vertebrados al menos 23 factores distintos. El prototipo de la familia es FGF-2 o bFGF. En su forma activa el FGF-2 es una proteína de 146 aác. y 16-18 KDa, aunque existen isoformas de mayor PM que penetran en la célula y llegan al núcleo (31, 32). En el suero humano el FGF-2 es detectable y su concentración presenta un evidente ritmo circadiano (33). También se detecta el factor en orina. Tanto en suero como en orina, la concentración de FGF-2 aumenta en ciertas neoplasias malignas (32).

Este péptido, a diferencia de la mayor parte de los FC, puede actuar no solo mediante la unión a receptores TK, sino también de forma directa sobre el núcleo, por internalización de complejos FGFR-FGF, que actuarían como factores de transcripción. Además, la li-



beración de FGF-2 se produce por un mecanismo diferente al demostrado para otros factores; la célula no lo secreta por exocitosis, sino que lo libera al ser destruida o cuando presenta alteraciones. En el medio extracelular, estos factores se unen a proteoglicanos ricos en heparán sulfato. Se han identificado 4 receptores de alta afinidad para los miembros de la familia, ellos son: FGFR-1, FGFR-2 (bek), FGFR-3, FGFR-4. Todas estas proteínas constan de un dominio de unión al ligando, un dominio transmembrana y un dominio TK intracitoplasmático (32).

*In vitro* se ha comprobado que estas sustancias poseen efectos mitogénicos, quimiotácticos y que ejercen acciones sobre la diferenciación celular que alcanzan a condrocitos, hepatocitos, osteoblastos, mioblastos, melanocitos, células indiferenciadas del SNC, epitelio esofágico, etc (32). *In vivo*, los FGFs estimulan la proliferación queratinocítica. Los ratones transgénicos negativos para FGFR en la capa suprabasal de la epidermis, poseen alteraciones en la organización de esta capa, su espesor se adelgaza y se altera la expresión de queratina 6, por lo que se cree que son esenciales para la morfogénesis de la epidermis. El tratamiento con FGF-2 o FGF-1 estimula el depósito de matriz extracelular durante la curación de las heridas cutáneas. En el caso de FGF-1 el proceso se observa tanto con la aplicación local del factor, como con el uso de plásmidos que expresan su gen (12). En conejos, FGF-2 acelera la curación de retinas injuriadas con rayos láser y de lesiones corneales. Los efectos sobre las úlceras corneales también se comprobaron en gatos, postulándose un potencial uso terapéutico para este tipo de heridas. La inoculación intravitreal de FGFs, inhibe la degeneración de fotorreceptores en la distrofia retiniana, mientras que FGF-2 induce la regeneración de la retina neural extirpada en el ojo de embrión de pollo. En un modelo experimental de infarto de miocardio canino, la inyección intracardiaca de FGF-2 estimula la función sistólica y reduce el tamaño de las áreas de infarto. El factor también mejora la funcionalidad del miocardio en porcinos con isquemia cardíaca crónica. En úlceras gastroduodenales, FGF-2 induce la neovascularización y la persistencia de matriz provisional sin formación de escara de colágeno, por lo que acelera la curación de úlceras duodenales. El sucralfato, una droga antiulcerosa, liga al FGF-2 protegiéndolo de la degradación. Estos resultados generan grandes expectativas sobre el uso futuro del factor en las gastropatías y enteropatías. La aplicación de FGF-2 en ratones, previene la neumonitis le-

tal inducida por radiación, esta observación coincide con que en lesiones intraalveolares agudas, los macrófagos alveolares incrementan la producción del factor (32).

Respecto al tejido óseo, cuando el factor se administra por vía parenteral estimula la proliferación osteoblástica y genera descenso del depósito de matriz. Diversas anomalías esqueléticas humanas como la acondroplasia y la craneostosis obedecen a mutaciones que interfieren con la función de algunos receptores para este factor, en especial el FGFR -3 (34).

En la carcinogénesis, el efecto más importante de los FGFs parece estar relacionado con la angiogénesis, antes que con la proliferación de las propias células tumorales. Esta función angiogénica también se observa en los tejidos normales. El mecanismo de secreción en este caso sería paracrino; el factor formado por los macrófagos estimularía la proliferación endotelial (32).

Los distintos miembros de la familia intervienen en la implantación y el desarrollo embrionario temprano. El FGFR-2 es necesario para que se produzca la fusión entre corion y alantoides, proceso indispensable para la nutrición embrionaria. Los ratones nulos para FGF-4 mueren en el momento de la implantación, este factor además mantendría indiferenciadas a las *stem cells* trofoblásticas. Tanto FGF-2 como FGF-4 y FGF-8 son necesarios para la formación de los miembros en el embrión. Los transgénicos con FGF-2 sobre-expresado tienen una mayor supervivencia de las neuronas sometidos a daño isquémico, algo semejante ocurre cuando se administra el factor a ratones neonatos con ligadura carotídea unilateral.

Los cambios en la concentración del factor y sus receptores se asociaron a numerosas alteraciones del sistema nervioso; por ejemplo en las placas seniles de la enfermedad de Alzheimer se acumula FGF-2 que atenúa los efectos neurodegenerativos del  $\beta$ -amiloide. En la enfermedad de Parkinson hay una baja cantidad de FGF-2 en la sustancia negra y en la enfermedad de Huntington se incrementa su expresión en forma proporcional a la severidad de la enfermedad. Estos datos sumados al efecto de FGF-2 sobre cultivos neuronales, en los que mejora la supervivencia, llevaron a especular que existe un efecto protector de FGF-2 sobre la degeneración neuronal (32).

EL KGF o FGF-7 es producido por las células estromales, actuando por vía paracrina sobre epitelios tales como epidermis, neumocitos tipo II, alvéolos mamarios y recubrimiento del tracto gastrointestinal. Tiene un peso molecular de 18 KDa. Su receptor se forma por el procesamiento alternativo del ARNm del FGFR-2 (35). *In vivo*, el tratamiento con KGF desencadena hiperplasia de neumocitos tipo II, conductos pancreáticos, epitelio gastrointestinal y glándula mamaria de rata, tanto hembras como machos. Los cambios producidos en la glándula mamaria recuerdan por su morfología a la hiperplasia intraductal atípica del humano (36). A diferencia de lo que ocurre con otros mitógenos epidérmicos como FGF-2 y EGF, KGF también estimula la proliferación celular en folículos pilosos y glándulas sebáceas. La expresión del ARNm de KGF se incrementa 160 veces en la piel del ratón con heridas de escisión. El efecto promotor de la proliferación no es tan marcado en ratones diabéticos (12). KGF induce la reepitelización que sigue a las injurias (35). El KGF también estimula la diferenciación epitelial elevando la expresión de ARNm de citoqueratinas. Para probar los efectos del factor en piel se realizó un experimento en cerdos con quemaduras, en este caso el tratamiento local con el factor incrementa la proliferación epidérmica sin actuar sobre el tejido de granulación (35). El tratamiento con KGF disminuye la mortalidad y la intensidad de las lesiones gastrointestinales en ratones con trasplante medular. El factor disminuye la generación de algunas citoquinas (por ejemplo TNF $\alpha$ ) que intervienen en la patogenia de la enfermedad que ocurre en el animal transplantado. El KGF también protege al epitelio intestinal de los efectos nocivos de la quimioterapia (37).

## **SUPERFAMILIA DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA**

En 1978 De Larco y Todaro, aislaron una sustancia a la que denominaron factor de crecimiento del sarcoma murino. En los primeros ensayos este factor mostró capacidad para generar cambios fenotípicos reversibles en los cultivos celulares. Pocos años después se encontraron distintos isotipos del factor y se demostró que estas sustancias inhiben la proliferación celular y promueven la transformación de fibroblastos y la diferenciación de condrocitos, por entonces se las llamó TGF $\beta$ . Por la misma época Moses y Holley demostraron que el TGF $\beta$  es idéntico al inhibidor del crecimiento celular epitelial, aislado del mono verde africano. En 1987 se reunió a este péptido

con otros de un PM semejante, 25 KDa, como la inhibina, la activina y la sustancia inhibitoria de Müller (MIS), en la superfamilia del TGF $\beta$ . Años después se agregaron otras sustancias como los BMPs, nodal, etc. Posteriormente se ha revisado la taxonomía del grupo hablando de una familia de TGF $\beta$  dividida luego en subfamilias. Los miembros de la familia, excepto el GDNF y las inhibinas, poseen tres tipos de receptores. Los de tipo I: son quinasas de serina y treonina, encargadas de iniciar las cascadas de reacciones dentro de las células. Los receptores tipo II: se unen al ligando y activan al receptor tipo I. Los de tipo III: no participan de las reacciones pero facilitan la unión a los otros receptores, son ejemplos de este grupo las endoglinas y los betaglicanos, que son proteoglicanos de anclaje a la membrana (2, 3) (Fig. 3).

**La familia de los TGF $\alpha$**  incluye los isotipos 1,2,3,4,5 del TGF $\beta$  de los cuales el prototipo es TGF $\beta$ 1, un homodímero que posee muy alta conservación filogenética, existiendo un 98% de homología entre hombre y ratón. El TGF $\beta$  se secreta en forma latente y su activación depende de proteasas liberadas tras el contacto célula-célula que clivan a la proteína precursora en el TGF $\beta$  y el péptido asociado a latencia (38). Los TGF $\beta$ s 1, 2 y 3 se localizan en diferentes tejidos de mamíferos, los gránulos alfa de las plaquetas y el hueso son las localizaciones en donde estos factores son más abundantes. Los TGF $\beta$  4 y 5 no se aislaron en mamíferos. Estos factores poseen receptores de los tres tipos mencionados. El de tipo I se denomina TGF $\beta$ R I, el de tipo II se conoce como TGF $\beta$ R II, dentro de los de tipo III el betaglicano es el más importante. Cuando el receptor tipo II se une al ligando, activa al receptor tipo I (por fosforilación), y éste último inicia la cascada de reacciones celulares originadas por el factor. En esta cascada, es fundamental la activación por fosforilación de las proteínas MAD (SMAD de *Drosophila*) que inician una serie de pasos que culmina con la regulación de la expresión de genes relacionados con el ciclo celular como Myc, Rb y p53 (3).

Los TGF $\beta$  son los inhibidores de la proliferación celular más importantes. *In vitro* actúan sobre epitelios, endotelios y fibroblastos, entre otros tipos de células. Los TGF $\beta$ , también estimulan la diferenciación y la síntesis de colágeno, fibronectinas y proteoglicanos en cultivos celulares (2). La mayoría de los ratones nulos para TGF $\beta$ 1 mueren durante la vida prenatal, sin embargo algunos animales llegan a nacer y al cumplir tres semanas presen-

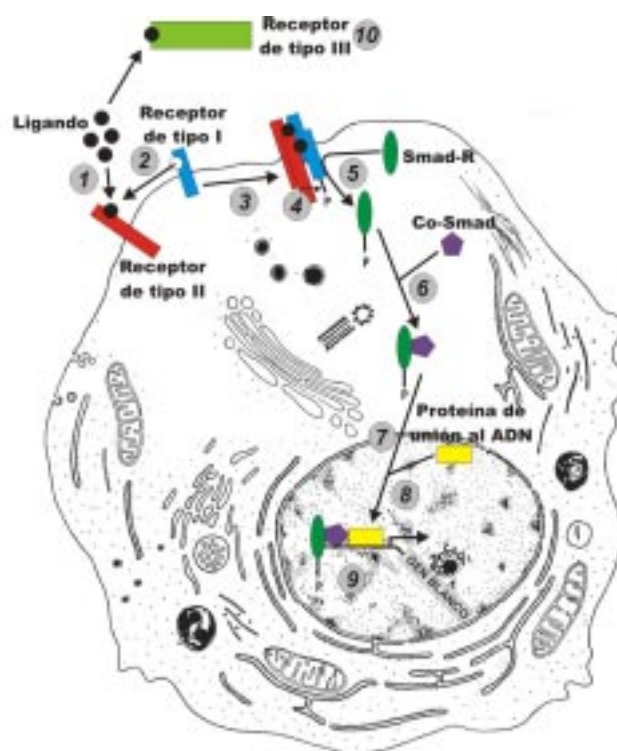


Figura 3. El ligando, un miembro de la superfamilia de los TGFβ, se une al receptor de tipo II (1). El complejo formado se une al receptor de tipo I (2-3), que se fosforila (4) y a su vez el complejo formado fosforila a la proteína Smad (5). Smad se une a una proteína Co-Smad (6) e ingresa al núcleo (7) en donde se liga a una proteína de unión al ADN (8) que modifica la expresión de genes específicos (gen blanco) (9). Los receptores de tipo III son componentes de la matriz extracelular que mantienen al ligando en la zona (10).

Figure 3. A member of TGFβ superfamily binds to type II receptor (1). The complex generated binds to type I receptor (2-3), that fosforilates itself (4) and the new complex formed fosforilates a Smad protein (5). Smad will bind to a Co-Smad protein (6) and ingress to nucleus (7) where it attach to DNA binding protein (8) modifying the expression of specific genes (target gen) (9). Type III receptors are components of the extracellular matrix that maintain TGFβ members around the zone (10).

tan inflamaciones de distintos órganos y mueren, lo que demuestra que estos factores también intervienen en los procesos inflamatorios. Los animales nulos para el TGFβ3 nacieron, pero mueren horas después con hendidura palatina e inmadurez pulmonar (39).

Durante la implantación y la preñez temprana, el TGFβ es producido por las células deciduales para inducir la síntesis de inhibidores de la metaloproteasas; por lo tanto su rol principal consiste en impedir una invasión excesiva por parte del trofoblasto. En estadios posteriores, el factor inhibe la proliferación del citotrofoblasto.

Los TGFβ son reguladores paracrinos y autocrinos negativos de la proliferación de diversas poblaciones celulares epiteliales como la epidermis, los enterocitos y los hepatocitos (2).

Los TGFβ intervendrían en la detención de la proliferación hepatocítica desencadenada después de la hiperplasia hepática que si-

gue a la hepatectomía y en el mantenimiento de la baja actividad mitótica del hígado intacto. El mecanismo sería paracrino, ya que el ARNm del factor se detectó en las células de Ito y en el endotelio pero no en los hepatocitos y células ductales (15). Los TGFβ son potentes inhibidores de la proliferación de las células ductales de la mama del ratón. Luego del desarrollo, la producción mamaria del factor decrece, pero aumenta en los tumores mamarios, en los que puede intervenir en la angiogénesis, o en la transformación de las células epiteliales hacia un fenotipo mesenquimático (Dickson and Lippman 1995). Las células de las criptas intestinales contienen más TGFβ a medida que se desplazan hacia la luz y disminuye su potencial proliferativo (2). En los enterocitos neoplásicos, a diferencia de lo que ocurre en su contraparte normal, el efecto de TGFβ puede ser mitogénico (40).

La administración de TGFβ1 induce la formación de tejido óseo en los huesos largos de rata. En heridas realizadas en orejas de co-

nejos, la aplicación de TGF $\beta$ 1 recombinante no solo acelera la cicatrización de los tejidos blandos, sino que también incrementa la formación de hueso en la región por inducir la diferenciación osteoblástica de las células del pericondrio. Coincidiendo con estas observaciones, el TGF $\beta$ 1 se detectó en sitios de osificación endocondral e intramembranosa y de reparación de fracturas (41).

Las plaquetas son el primer sitio de síntesis del factor durante los procesos de inflamación y reparación, luego es producido por las propias células inflamatorias. Actualmente se sabe que el TGF $\beta$  es parte de la red de citoquinas inflamatorias, sus funciones en este proceso son complejas y exceden los objetivos de este trabajo. Se considera que en forma general es un factor que estimula la diferenciación de las células de la inflamación, pero cuando estas maduran las inhibe, favoreciendo la resolución. (38). En las heridas el TGF $\beta$ 1 es liberado por las plaquetas y los macrófagos e induce quimiotaxis, proliferación y síntesis de colágeno en los fibroblastos dérmicos, colaborando en la reparación. La administración *in situ* del factor estimula la formación de tejido de granulación (42). Pese a inhibir la proliferación celular en la epidermis, el TGF $\beta$  también favorecería la reepitelización por modificar las proteínas  $\beta$  de unión a matriz y en consecuencia los movimientos de los queratinocitos epidérmicos que ocurren en la fase migratoria de la reepitelización de heridas. La sobreexpresión de TGF $\beta$  se asoció a esclerodermia, escaras hipertróficas y queloide (12, 42). En el hígado, TGF $\beta$  induce a las células de Ito para que produzcan factores fibrogénicos, lo que genera así un círculo vicioso que culmina en la cirrosis (15). El TGF $\beta$  interviene en la patogenia de las nefritis intersticiales, las injurias repetidas o un exceso de glucosa estimulan la producción de TGF $\beta$  que produce un aumento de la síntesis de proteínas de matriz extracelular. Un modelo generado para explicar los procesos de regeneración y fibrosis renal, propone que ante una injuria única se libera HGF que induce regeneración tubular, pero ante injurias repetidas descende la concentración de HGF y se eleva la de TGF $\alpha$  lo que determina disminución de la proliferación y aumento de la apoptosis en epitelio y endotelio, además de aumento en el número de miofibroblastos y de componentes de matriz extracelular (43). La relación entre el TGF $\beta$  y las neoplasias es compleja, ya que aunque en general el tratamiento con el factor inhibe el crecimiento tumoral, también genera un incremento de la malignidad y de la aparición de metástasis. El aumento de la

malignidad podría relacionarse con el efecto angiogénico y con el incremento de la motilidad. En el hombre, en el 80% de las formas de cáncer de colon y en la totalidad de los de páncreas hay modificaciones en la expresión de los genes relacionados con el patrón de señales de TGF $\beta$  (40).

**La familia de las inhibinas** está constituida por péptidos diméricos, aislados del licor folicular que poseen capacidad para regular la producción de FSH hipofisiaria. En la presente revisión no se consideran sus acciones sobre la reproducción, tan complejas que merecerían por sí solas un artículo. Las inhibinas, además de disminuir la síntesis hipofisiaria de FSH, inhiben la producción de esteroides gonadales y de hormonas placentarias (2). Las activinas son semejantes a las inhibinas, pero estimulan la síntesis de FSH. Estas sustancias actúan como mediadores simpáticos, modulan las funciones gonadales, intervienen en el metabolismo de la glucosa, regulan la proliferación y diferenciación de diversas poblaciones celulares e inducen la formación del mesodermo. Las activinas envían su señal a partir de un complejo receptor multimérico semejante al descrito para TGF $\beta$  (39). En los embriones de algunos vertebrados la activina induce la formación de mesodermo dorsal e inhibe la inducción neural. La activina participa en los procesos de cicatrización. La inducción de la expresión de activina ya ocurre 15 horas después de producida una injuria cutánea. Los factores liberados por las plaquetas tales como PDGF, TGF $\beta$ , EGF y las citoquinas inflamatorias IL-1 y TNF $\alpha$  producidas por los neutrófilos y los macrófagos inducen la elaboración de activina por parte de los fibroblastos, los queratinocitos y los macrófagos. En algunas enfermedades crónicas, como la cirrosis, se sintetizan grandes cantidades de activina que inducirían a los miofibroblastos a producir matriz extracelular. La activina también actuaría como mitógeno de miocitos lisos, por lo que se postula un rol de este factor en la patogenia de la aterosclerosis. En las lesiones del sistema nervioso la activina podría actuar como neuroprotector (44).

**La familia del DPP** está representada por unas veinte sustancias que intervienen en el desarrollo embrionario de los metazoarios, habiéndose encontrado representantes en organismos que van desde la *Drosophila* hasta el hombre. Sus funciones incluyen la participación en la supervivencia y proliferación celular, morfogénesis, diferenciación y apoptosis. Dentro del grupo encontramos a los BMP,

péptidos que en conjunto inducen respuestas de quimiotaxis, proliferación y diferenciación que culminan con la transformación de un molde cartilaginoso en hueso con médula ósea (2, 45). La función de los BMPs en la morfogénesis parece ser muy amplia. Estos factores intervendrían en la formación y evolución del mesodermo de la región caudal del cuerpo en aves y mamíferos. También parecen ser los BMP-2, 4 y 7 los responsables de la apoptosis de las células de las membranas interdigitales en la morfogénesis de los miembros de aves y mamíferos (46). Los BMPs-2, 4 y 7 actúan durante la odontogénesis del ratón en el nudo del esmalte inhibiendo la proliferación epitelial. Este efecto antiproliferativo también ocurre en el pulmón embrionario; en cambio en riñón, ojo y ectodermo embrionario, los BMP son necesarios para la proliferación celular epitelial.

En el ectodermo BMP-4 es un inductor de diferenciación epidérmica, por lo que debe ser anulado, por la unión a proteínas como la cordina, para que se desarrolle el sistema nervioso y ocurra la dorsalización del embrión; además este factor determina que el mesodermo formado sea de tipo dorsal. En *Drosophila* la expresión de los inhibidores de DPP (el homólogo de BMP), es inversa a lo que ocurre en vertebrados, según algunos autores esto explicaría las diferencias en el eje corporal entre los cordados y otros animales (3, 45) (Fig. 4).

Trabajos recientes involucran a estos factores en los procesos de diferenciación que ocurren en los tumores mixtos de la mama canina. EL BMP-6 se detecta en las células mioepiteliales de los tumores mixtos de la mama de perra e induce la diferenciación de

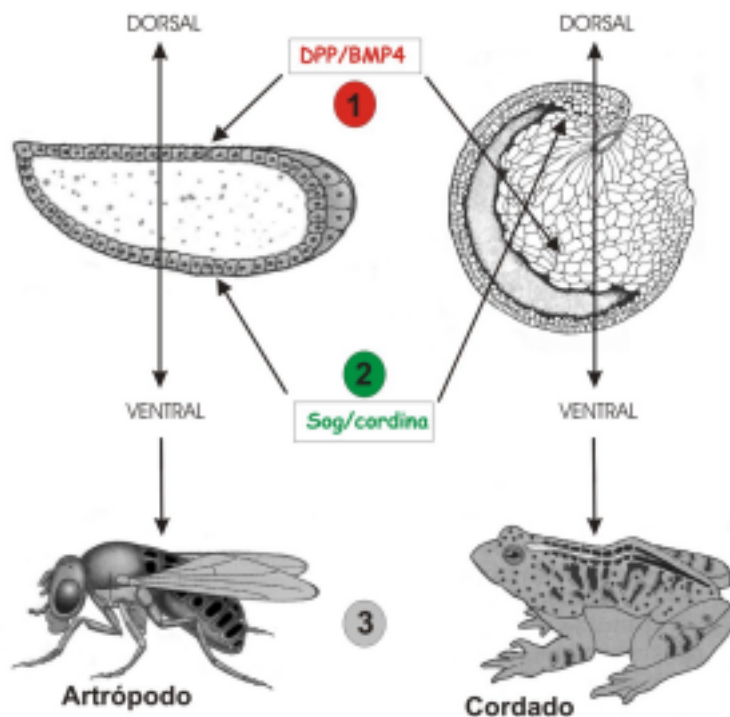


Figura 4. Acciones de los miembros de la familia DPP y sus proteínas inhibidoras en la formación del eje dorsal de artrópodos y cordados.

- (1) A. En artrópodos, la expresión del gen DPP determina la formación de estructuras dorsales. B. La expresión del homólogo de este gen en cordados, BMP4, determina la formación de estructuras ventrales.
- (2) Sog/cordina son proteínas que anulan los efectos de los productos de DPP y BMP4 respectivamente, por lo que determinan la formación de estructuras opuestas.
- (3) La diferencia en la expresión de estos cuatro genes genera una inversión entre los planes corporales de invertebrados y cordados.

Figure 4. Actions of DPP family members and its inhibits proteins in the formation of arthropods and chordates dorsal axis.

- (1) A. In arthropods, DPP gen expression determinates the formation of dorsal structures. B. In chordates, the expression of BMP4 determinates the formation of ventral structures.
- (2) Sog/cordina are proteins that cancel the effects of DPP and BMP4 products respectively determinating the formation of opposite structures.
- (3) The difference in the expression of this four genes generates an inversion between invertebrates and chordates corporal planes.

estas hacia tejido condroide y óseo. Sin embargo cuando los tumores se malignizan no expresarían el factor, ya que el mismo activa la diferenciación e inhibe la proliferación celular (47). EL BMP-7, por sus efectos fibrogénicos, está involucrado en la patogenia de la nefritis intersticial crónica (48).

La familia también incluye algunos de los denominados GDFs que entre otras funciones son inhibidores específicos del crecimiento de algunos tejidos (49).

**MIS** es el único representante de su familia. Esta sustancia induce la regresión de los conductos de Müller en el embrión masculino. La expresión de MIS se restringe a las células de Sertoli fetales y adultas y a la granulosa del ovario postnatal. La síntesis de MIS comienza en el momento en que se inicia la formación de los tubos seminíferos, siendo máxima la secreción durante el período de regresión de los conductos y descendiendo abruptamente en la pubertad. En las hembras, MIS se detecta en folículos preantrales y antrales, especialmente en las células cercanas al ovocito e inhibe el crecimiento inicial de los folículos primordiales (50).

**La familia del GDNF** también contiene un solo representante, que posee una homología del 20% con TGF $\beta$ . El GDNF es un factor de supervivencia para neuronas dopaminérgicas del cerebro medio. Pese a que está relacionado con el TGF $\beta$ , uno de los receptores de GDNF es una TK, específicamente este receptor es el producto del protooncogen Ret. Antes del aislamiento de GDNF, se conocía a Ret como oncogen, ya que su sobre-expresión predispone la aparición de neoplasias endocrinas, especialmente carcinomas tiroideos, mientras que la pérdida de su función, origina algunas formas familiares de enfermedad de Hirschsprung, un desorden en el desarrollo de la cresta neural que incluye defectos de la inervación intestinal (Massagué 1998). Al analizar mutantes de este receptor en hombre y ratón se demostró que Ret es necesario para el desarrollo del aparato digestivo y el riñón. En el riñón embrionario se encontró que en el mesénquima del futuro metanefros se expresa GDNF, mientras que en el epitelio del brote ureteral se expresa c-Ret (Figura 5). Ret también se expresa en las neuronas entéricas. En general los homocigotas deficientes del factor nacen vivos pero mueren a los 2 días, el 100% de estos animales poseen agenesia o disgenesia bilateral del riñón, con ausencia o anomalías del brote ureteral (13).

**Nodal** es un miembro de la superfamilia que se expresa de forma asimétrica en el embrión de ratón y pollo e intervendría en la formación del eje derecho-izquierdo. Su ausencia determina falta de formación de la línea primitiva y defectos en la dorsalización del embrión (3).

## FACTOR DE CRECIMIENTO PARA HEPATOCITOS

En la década de 1980 se aislaron una serie de sustancias de PM semejante, pero con acciones muy diversas, entre ellos se pueden mencionar la hepatopoyetina A, el factor scatter, el factor citotóxico tumoral y el factor mitógeno epitelial derivado de fibroblastos. Posteriormente se demostró que todas estas eran en realidad un único factor de localización y acciones múltiples, al que se denominó HGF. El HGF es un modulador pleiotrópico de la proliferación, morfogénesis y desplazamiento epitelial. Actúa con frecuencia por mecanismos endocrinos y paracrinos; en el hígado es sintetizado por las células de Ito y en el riñón por las endoteliales y mesangiales. La molécula del HGF, de 100 KDa, es más pesada que la de otros FC. Está constituida por dos cadenas polipeptídicas de 463 y 234 aminoácidos, que poseen más homología con ciertas proteasas que con otros FC. El receptor, HGFR, es una TK, producto del protooncogen c-Met. Por lo general el HGFR se encuentra en epitelios y melanocitos y liga al factor producido por células del estroma (15, 43).

*In vitro*, HGF es el mitógeno más potente para hepatocitos, estimulando también la proliferación de células de túbulos colectores y proximales renales, y de líneas celulares de melanomas y de carcinomas mamarios. El HGF también modifica la motilidad de las células de diversos cultivos primarios y de numerosas líneas celulares (43). Este factor interviene en la regeneración hepática que sigue a una hepatectomía subtotal en roedores. En el inicio de la respuesta, actúa mediante un mecanismo endocrino ya que lo producen las células del estroma del bazo, riñón y pulmón. Posteriormente, el factor es sintetizado por las células de Ito y actúa en forma paracrina. Las investigaciones más recientes demostraron que para la manifestación plena de las acciones de HGF se necesita que los hepatocitos hayan salido del estadio G0 del ciclo celular, pasaje que estaría regulado por TNF $\alpha$  e IL6. Dentro de los pacientes humanos con hepatopatías, los que padecen falla hepática fulminante tienen un valor máximo de HGF sérico, lo que se asocia con un mayor índice de su-



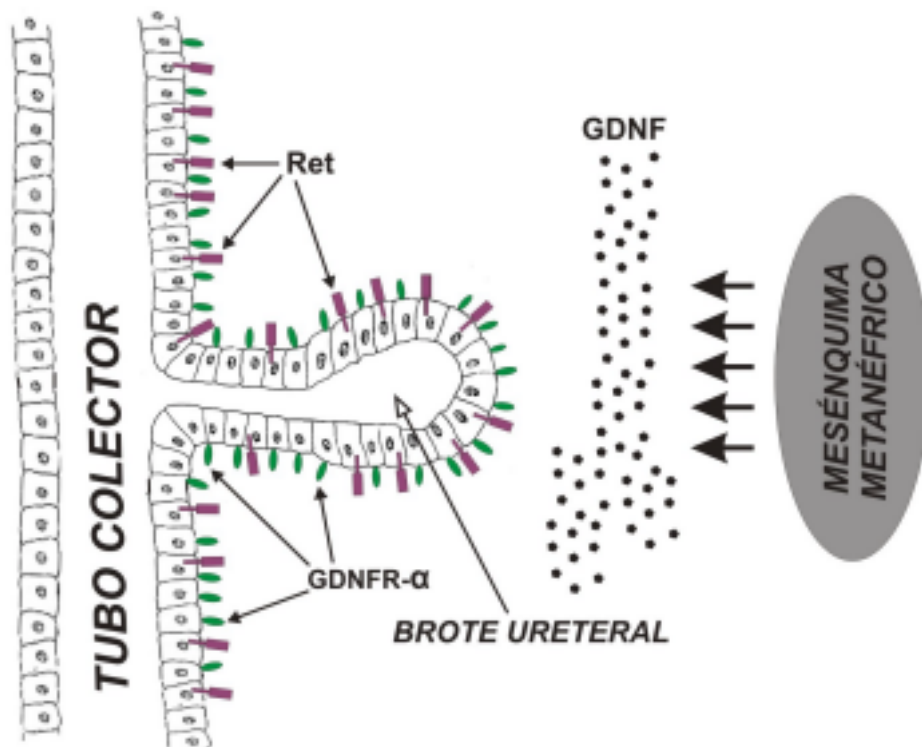


Figura 5a. Producción de GDNF por parte del mesénquima del blastema metanéfrico. Este factor se une a los GDNFR- $\alpha$  existentes en el brote ureteral, para inducir la formación de los tubos colectores.

Figure 5a. Expression patterns. GDNF production from the mesenchyme of metanephric blastema. This factor binds to the GDNFR- $\alpha$  ureteral germ receptors for induce collector tubes formation.

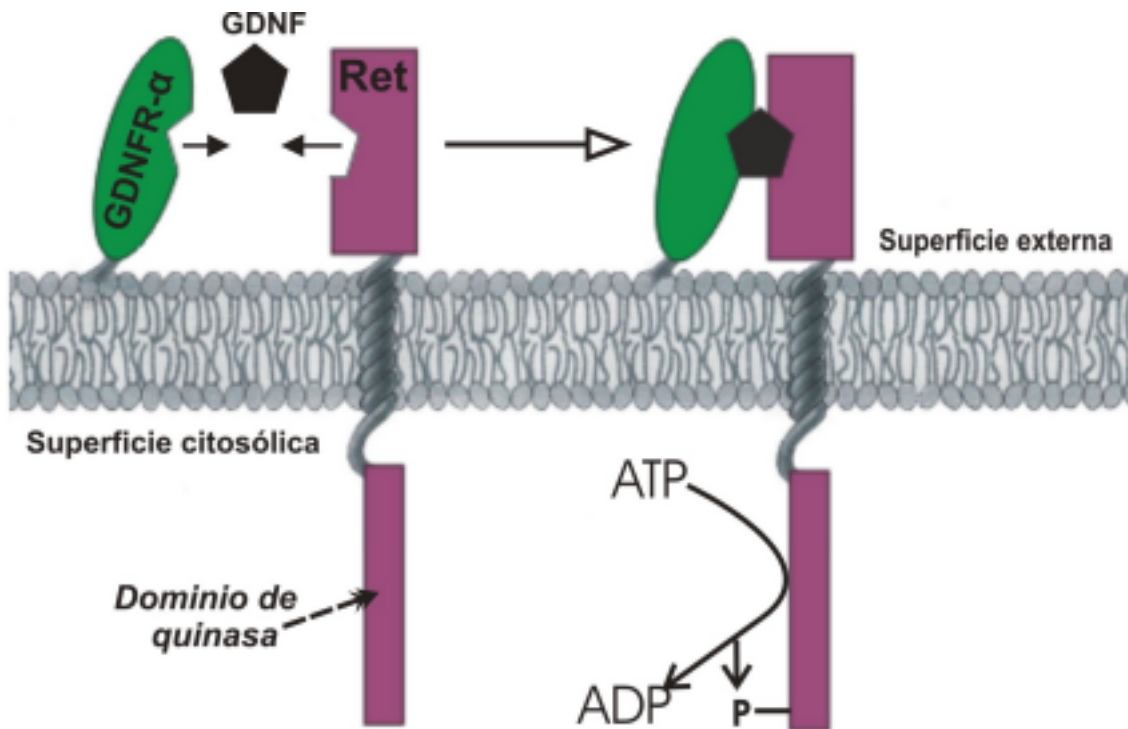


Figura 5b. Activación de ret. Pese a ser un miembro de la superfamilia del TGF $\beta$ , GDNF se une a un receptor (Ret), que es una quinasa de tirosina.

Figure 5b. Ret activation. Although it is a member of the TGF $\beta$  superfamily, GDNF binds to a Ret receptor which is a tyrosin kinase.



pervivencia, por lo que la concentración sérica del factor adquiere valor en el pronóstico de algunas enfermedades hepáticas graves (15, 51). En la regeneración renal parece ocurrir una secuencia semejante, actuando primero HGF en forma endocrina y luego mediante mecanismos paracrin. HGF corresponde a la sustancia denominada a mediados del siglo XX renotropina. Tanto en el riñón como en el hígado, el rol de HGF sobre el desarrollo del estroma que sigue al daño crónico es opuesto al de TGF $\beta$ . Matsumoto y Nakamura desarrollaron un modelo para explicar el efecto de estos factores. Al principio del proceso regenerativo la concentración de HGF es alta, este factor es antiapoptótico y mitogénico sobre el parénquima y el endotelio, e inhibe la formación de miofibroblastos y el desarrollo de matriz extracelular. Posteriormente comienza a desaparecer HGF y se incrementa la concentración de TGF  $\beta$  que tiene las acciones opuestas. Cada uno de estos factores inhibe la transcripción de los genes que codifican al otro. La administración de HGF previene la esclerosis renal por disminuir los niveles de TGF $\beta$ . El tratamiento directo con este factor o la terapia génica con el ADN que lo codifica, podrían ser útiles en enfermedades en que está alterada la reparación (43).

Se ha relacionado a HGF con ciertas enfermedades placentarias y se le atribuye una participación importante en la formación de estructuras epiteliales con luz y en la morfogénesis de las criptas intestinales. En los tumores sus acciones son complejas. Sobre los carcinomas mamarios ductales que poseen células de aspecto mesenquimático, y carecen de la proteína de adhesión E-cadherina, el factor favorece la aparición de metástasis, ya que incrementa las uniones a la sustancia intercelular y la motilidad celular. En cambio, sobre los tumores con células de aspecto epitelial (que poseen E-cadherina) el factor induce formación de estructuras con luz, con reducción de la malignidad (1, 52).

Los ratones nulos para el factor mueren con trastornos en las células del trofoblasto y en la formación del hígado y del dermomiótomo. El HGF y su receptor se expresan en el metanefros ya inducido por la yema ureteral, ratón y poseen efectos importantes en la nefrogénesis. Aunque sobre el metanefros el mecanismo sería autocrino, también actuaría en forma paracrina sobre la formación y crecimiento de las ramas del brote ureteral. El tratamiento con anticuerpos anti-HGF genera anomalías en el desarrollo de la yema ureteral y de las neuronas (13).

## FAMILIA DEL VEGF

El VEGF, o VEGF-A, es un factor que liga a dos TK: Flt1 (VEGFR1) y KDR (VEGFR2). Fue el primer miembro de su familia detectado, pero posteriormente se secuenciaron sustancias semejantes como PlGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y E. Este factor actúa en forma paracrina, siendo el angiogéno más potente conocido. La expresión de su gen se estimula por la hipoxia, aumentando en la mayor parte de las neoplasias. En las heridas se produce VEGF en los queratinocitos, lo que es menos manifiesto en ratas diabéticas (53, 54).

La formación de nuevos vasos en la vida post-natal es un proceso muy complejo; la expresión del gen de VEGF es inducida de forma indirecta por la hipoxia que estimula la expresión de factores de transcripción del grupo HIF que inducen la expresión de distintos genes relacionados con la angiogénesis tales como VEGF, NOS, PDGF y Ang 2. La acción de VEGF determina la formación de vasos inmaduros y altamente permeables, posteriormente Ang 1, E-cadherina y PECAM, generan la maduración de los vasos formados (54, 55).

Los mutantes negativos para los receptores del factor mueren *in utero* con defectos en la formación de vasos y sangre. Los transgénicos que carecen del receptor VEGFR1 mueren sin desarrollar el brote hepático, lo que se debería a los efectos inductores del endotelio sobre el endodermo, necesarios para la formación del hígado. VEGF también incrementa la permeabilidad vascular, posee algunas acciones sobre células del sistema inmune y tendría roles relevantes en la patogenia de ciertas enfermedades como la artritis reumatoidea y la retinopatía diabéticas. En un modelo de conejos operados en la arteria femoral, para simular los cambios que genera la aterosclerosis en miembros, se evidencia una mejoría clínica al inyectar el factor en la arteria, con neovascularización de los miembros. Un resultado semejante se observó en modelos experimentales de perro y cerdo con hipoxia miocárdica, en los que la administración del factor redujo el área de infarto por aumento de la circulación colateral.

Mientras algunos especialistas consideran que el empleo de anticuerpos específicos contra VEGF y su receptor constituyen tratamientos potenciales para las neoplasias, otros expertos creen que la complejidad de los procesos que intervienen en la angiogénesis hace difícil su aplicación terapéutica. En cuanto al uso terapéutico de VEGF debemos considerar que si bien generaría efectos beneficiosos, tam-

bién puede desencadenar hipotensión y edemas (53, 55).

A diferencia de VEGF-A, B y E que son angiogénicos, VEGF C y D están implicados en la linfangiogénesis. Los tumores que sobre-expresan VEGF-D y C poseen mayor cantidad de vasos linfáticos peri e intratumorales. Además, el tratamiento con anticuerpos contra VEGF-D, disminuye el número de metástasis linfáticas de los tumores de estos animales. La linfangiogénesis en carcinomas mamarios transplantables puede bloquearse utilizando una forma soluble del VEGFR3. Los tumores humanos con alta concentración de estos factores poseen abundante cantidad de vasos linfáticos. No se conoce el mecanismo que induce la expresión de los genes de VEGF-C y D, pero no interviene la hipoxia como ocurre con otros miembros de la familia (56).

Los receptores de VEGF pueden utilizarse como marcadores de células endoteliales o de ciertos tumores, por ejemplo VEGFR3 es un marcador del sarcoma de Kaposi humano y VEGFR2 se utiliza como marcador de angioblastos (54, 55).

### **FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL DERIVADO DE GLANDULAS ENDOCRINAS**

Este factor no está relacionado con los otros VEGF. Tiene un PM de 8.6 KDa. Su ARNm se encuentra en las glándulas endocrinas esteroideogénicas como ovario, testículo, corteza adrenal y placenta. La hipoxia induce su producción. El tratamiento con este factor genera proliferación, migración y formación de fenestras en las células endoteliales. Sin embargo, sus efectos se limitan a las células endoteliales de las glándulas productoras de hormonas esteroides, en las que complementa la acción de VEGF. Los animales que sobre-expresan el factor poseen una elevada frecuencia de quistes ováricos (53, 57).

### **ANGIOPOYETINAS**

Las angiopoyetinas constituyen una familia de factores formada por 4 miembros, de los cuales los más importantes son Ang-1 y Ang-2. Los receptores de estos factores son las TK del grupo Tie. Los ratones nulos para Ang-1 o su receptor desarrollan una vasculatura primaria normal, pero al proseguir el desarrollo manifiestan defectos en la remodelación tisular y en el desarrollo cardíaco. La sobre-expresión de Ang-1 en la piel origina hipervascularización, con aumento del tamaño pero no del número de vasos. La terapia

génica con el factor disminuye la permeabilidad vascular, lo que podría ser importante para el tratamiento de la retinopatía diabética y el edema cerebral. Mientras que Ang-1 actúa mediante mecanismos paracrinos, Ang-2 es autocrino. Ang-2 es producido por el endotelio actuando como un antagonista de Ang-1. Ang-2 también interviene en la linfangiogénesis (55).

### **EFRINAS**

Las efrinas son FC atípicos que para unirse a sus receptores deben adherirse a la membrana celular. Existen diversas efrinas, las más importantes son la B2 y la B4. Los ratones noqueados para los genes que codifican estas sustancias presentan defectos fatales en la vasculogénesis (formación de los vasos que ocurre en la vida prenatal). Durante la vida prenatal, la efrina B2 se localiza en el endotelio arterial y la B4 en el venoso, por lo que se cree que podrían intervenir en la determinación del tipo de vaso a formar. En el adulto la expresión no es endotelial como en el feto, si no que ocurre en músculo liso y pericitos. Sin embargo las efrinas vuelven a expresarse en el endotelio cuando existen cambios patológicos como presencia de neoplasias, o fisiológicos como los que ocurren en los ciclos sexuales femeninos. Estas sustancias también actúan como inductores durante el desarrollo embrionario (58).

### **CONCLUSIONES GENERALES. UN NUEVO PARADIGMA PARA LA BIOLOGÍA Y LA PATOLOGÍA DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO**

En el último cuarto de siglo numerosos trabajos mostraron las relaciones entre distintos FC en procesos biológicos complejos como la regeneración de órganos, la cicatrización de heridas y la carcinogénesis. Por ejemplo, en la cicatrización de heridas las plaquetas producen TGF $\beta$ 1 y PDGF que activan a los fibroblastos para la formación de tejido de granulación, debido a que inducen a estas células a formar metaloproteasas de matriz que degradan a la sustancia intercelular, favoreciendo la formación de nuevos vasos. Por otra parte estos fibroblastos activados producen FC como FGF-2 que estimula la angiogénesis. Entre las células neoplásicas y las células normales del estroma tumoral también se observa un mecanismo de activación recíproca mediado por FC; las células tumorales producen FC que estimulan a los fibroblastos y macrófagos a producir metaloproteasas y otros factores como PDGF, TGF $\beta$ 1 y FGF-2 que posibilitan la progresión tumoral (42).

Los FC son sustancias de aparición muy temprana en la evolución filogenética de los animales. Al actuar en forma autocrina y paracrina, pueden ser mensajeros que anteceden a la formación de un sistema circulatorio bien desarrollado, esto ocurre tanto en la ontogenia como en la filogenia. Muchos FC de mamíferos tienen sus homólogos no solo en otros vertebrados, sino también en artrópodos y nematodos. La conservación evolutiva se manifiesta tanto en la estructura como en la función. Muchas de las sustancias inductoras, cuya naturaleza fue desconocida hasta fines de la década de 1980, se reconocen hoy como FC, tal es el caso de los miembros de la familia del FGF, de los IGFs, de las activinas, de los BMP y de algunos factores angiogénicos (21).

Como las acciones de los FC son múltiples, también lo son sus potenciales usos. Muchas de las aplicaciones de éstas moléculas se señalaron a lo largo de la presente revisión, por lo que mencionaremos aquí solo unas pocas a modo de ejemplo. Para TGF $\beta$  se proponen usos en la cicatrización de heridas, también en la resolución de fracturas y en enfermedades autoinmunes. Además se especula sobre el uso de inhibidores del factor en trastornos de la matriz extracelular y de la cicatrización (59). El uso de TGF $\beta$  como antineoplásico puede ser importante en ciertas leucemias. Pero el uso sistémico del factor parece imposible porque produce caquexia y fibrosis generalizada (40). El tamoxifeno, una droga antiestrogénica, que estimula a los fibroblastos uterinos a producir TGF $\beta$ , previene la aparición de lesiones precancerosas. Con respecto a otras familias de factores, se determinó el valor pronóstico de c-erb B2 en adenocarcinomas de mama, estómago y endometrio; se propuso además bloquear dicha proteína como tratamiento antitumoral. En cuanto al uso terapéutico de la inhibición de los FC, un mecanismo podría ser el empleo de anticuerpos contra el factor o el tratamiento con drogas que inhiban a las TK. Se han encontrado resultados prometedores en distintos tumores con diversas sustancias, como las tirfostinas un grupo de drogas sintéticas de bajo PM, que bloquean la actividad TK de los receptores de FC. Para el caso del EGFR se han realizado numerosos ensayos en animales de experimentación y en pacientes humanos con distintos anticuerpos e inhibidores y se ha propuesto el uso de los mismos combinados con otros agentes quimioterápicos (6).

Debe considerarse para cualquier uso terapéutico de los FC, la vía de administra-

ción. Al respecto sirve de ejemplo el experimento realizado por Shah *et al.*, estos autores observaron que el tratamiento tópico de ratones con TGF $\beta$ 1 acelera la cicatrización cutánea con mayor depósito de sustancia extracelular. Sin embargo los ratones transgénicos que sobreexpresan TGF $\beta$ 1, tienen peor cicatrización que los controles. Se comprobó que en los transgénicos aumenta la concentración sérica del factor, pero disminuye la local. En este caso un tratamiento sistémico con TGF $\beta$  sería negativo para la cicatrización, a diferencia de lo que ocurre con la aplicación *in situ* del péptido. Tampoco deben olvidarse las variaciones de especie, por ejemplo a diferencia de lo observado en ratón, en la rata la administración sistémica de TGF $\beta$ -1 mejora la cicatrización de las heridas (59).

Podría ser importante regular la concentración de HGF, en ciertos tumores, así se han estudiado receptores del factor que no desencadenan respuestas biológicas (ej. NK4); inhibidores no específicos (ácidos grasos poliinsaturados, IL 4 y 2, ácido retinoico); inhibidores del receptor met; ARN antisentido contra el ARN de met o de HGF y antibióticos de la familia de la geldanamicina que activan a la plasmina inhibiendo a HGF (60). Los efectos colaterales del tratamiento con FC podrán ser una de las grandes limitaciones para su uso. Por ejemplo el empleo de IGF-I podría mejorar el deterioro neuronal que ocurre con la edad (22), pero niveles altos de este mismo factor incrementan el riesgo a tumores de mama, próstata y pulmón.

Otro uso potencial de mucho interés es la generación, *in vitro*, de células humanas para su posterior implantación en el organismo, lo que permitiría, por ejemplo, el reemplazo de neuronas dañadas. Es interesante el descubrimiento de dos líneas celulares multipotentes en el sistema nervioso central, una dependiente de FGF, la otra de EGF, que pueden originar neuronas (14).

Para culminar se puede aseverar que estamos frente a sustancias cuyo estudio interesa a ciencias tan distintas como la oncología clínica y la taxonomía, como la producción animal y la paleontología. Este interés múltiple hizo que en pocos lustros, los FC pasaran de ser una rareza de los laboratorios a constituir uno de los pilares sobre los que se sustentan la biología y la patología del crecimiento y desarrollo animal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Dickson RB, Lippman ME. Growth factor in breast

### C. Barbeito y col.

- cancer. *Endocrine Rev* 1995; 16: 559-589.
2. Massagué J. The Transforming Growth Factor  $\beta$  family. *Annu Rev Cell Biol* 1990; 6: 597-641.
  3. Massagué J. TGF- $\beta$ -signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-791.
  4. Jones SM, Kazlauskas A. Growth factor-dependent signaling and cell cycle progression. *FEBS Letters* 2001; 490:110-116.
  5. Cross M, Dexter M. Growth factors in development transformation and tumorigenesis. *Cell* 1991; 64:271-280.
  6. Herbst RS. Review of Epidermal Growth Factor Receptor Biology. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2004; 59 (2):21-26.
  7. Stern LE, Falcone RA, Kemp CJ, Braun MC, Erwin CR, Warner B. Salivary Epidermal Growth Factor and intestinal adaptation in male and female mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278:G871-G877.
  8. Scheving LA, Tsai TH, Scheving LE. Circadian-dependent response in DNA synthesis to Epidermal Growth Factor in spleen, bone marrow, and lung and in mitotic index of corneal epithelium in ad-libitum-fed and fasted CD2F1 mice. *Prog Clin Biol Res* 1987; 227: 181-191.
  9. Scheving LA, Tsai TH, Cornet LE, Fexers RJ, Scheving LE. Circadian variation of EGFR in mouse liver. *Anat Rec* 1989; 224: 459-465.
  10. Breider MA, Bleavins MR, Reindel JF, Gough AW, De La Iglesia FA. Cellular hyperplasia in rats following continuous intravenous infusion of recombinant human Epidermal Growth Factor. *Vet Pathol* 1996; 33: 184-194.
  11. Wu JC, Merlino G, Cvelovka K, Mosinger B, Fausto N. Autonomous growth in serum-free medium and production of hepatocellular carcinomas by differentiated hepatocytes lines that overexpress Transforming Growth Factor alfa. *Cancer Res* 1994; 54: 5964-5973.
  12. Suter M, Cramer FM, Olivry T, Mueller E, Von Tschanner C, Jensen PJ. Keratinocyte biology and pathology. *Vet Dermatol* 1997; 117 (8): 67-100.
  13. Hammerman MR. Growth factors in renal development. *Seminars Nephrol* 1995; 15:292-299.
  14. Wing R, Wong C, Guillaud L. The role of epidermal growth factor and its receptors in mammalian CNS. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2004; 15: 147-156.
  15. Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66.
  16. Marchionni MA. Neu tack on neuregulin. *Nature* 1995; 378: 334-335.
  17. Danilenko DM, Ring BD, Tarpley JE, Morris B, Van GY, Morlawieck A, Callahan W, Goldemberg M, Hershenson S, Pierce GI. Neu Differentiation Factor upregulates epidermal migration and integrin expression in excisional wounds. *Am J Pathol* 1995; 147: 1261-1277.
  18. Jones J, Clemmons DR. Insuline-Like Growth Factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Rev* 1995; 16: 3-34.
  19. Rosen CJ, Donahue LR, Hunter SJ. Insuline-like Growth Factor and bone: the osteoporosis connection. *P.S.E.B.M.* 1994; 206: 83-102.
  20. Nayak NR, Giudice LC. Comparative biology of the IGF system in endometrium, decidua and placenta, and clinical implications for foetal growth and implantation disorders. *Placenta* 2003; 24: 281-296.
  21. Teruel M, Smith R, Catalano R. Growth factors and embryo development. *Biocell* 2000; 24: 107-122.
  22. Van Dam PS, Aleman A. Insulin-like Growth Factor-I, cognition and brain aging. *European Journal of Pharmacology* 2004; 490: 87-95.
  23. Valenzuela CF, Kazlauskas A, Weiner JL. Roles of Platelet Derived Growth Factor in the developing and mature nervous systems. *Brain Res Rev* 1997; 24: 77-89.
  24. Betsholtz C, Karlsson L, Lindahl P. Developmental roles of platelet-derived growth factors. *Bioessays* 2001; 23: 494-507.
  25. Heldin CH, Westermack B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev* 1999; 79: 1283-1313.
  26. Annex BH, Simons M. Growth factor-induced therapeutic angiogenesis in the heart: protein therapy. *Cardiovasc Res* 2005; 65 (3): 649-55.
  27. Loveland KL, Schlatt S. Stem Cell Factor and C-kit in the mammalian testis: Lessons originating from mother nature's gene knockouts. *J Endocrinol* 1997; 153: 337-344.
  28. Márquez S, Galotta J, Portiansky EL, Barbeito CG. Characterisation of interstitial cells of Cajal in the bowel of the cattle (*Bos taurus*). Aceptado para ser publicado en *Veterinary Research Communication* 2005; Vol 25.
  29. Ward SM, Sanders KM. Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of Cajal: from bench to bedside I. Functional development and plasticity of interstitial cells of Cajal networks. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G602-G611.
  30. Casco F, Praderia L, Fanjul M, Pianzola H, Ottino A, Barbeito C, Corrons F, Pianzola M, Vogel J. Tumores estromales gastrointestinales. *Revista Médica de La Plata* 2003; 37: 16-20.
  31. Wiedlocha A, Sorensen V. Signaling, internalization, and intracellular activity of fibroblast growth factor. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004; 286: 45-79.
  32. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological rol of Fibroblast Growth Factor-2. *Endocrine Rev* 1997; 18:26-45
  33. Haus E, Dimitriu L, Nicolau GY, Bologa S, Sackett-Lundeen L. Circadian rhythms of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth

- factor 1 (IGF-I), insulin like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3), cortisol and melatonin in women with breast cancer. *Chronobiol Int* 2001; 18: 709-717.
34. De Moerlooze L, Dickson C. Skeletal disorders associated with Fibroblast Growth Factor Receptor mutations. *Current Op Gen Develop* 1997; 7: 378-385.
35. Sato C, Tsubo R, Shi C, Rubin JS, Ogawa H. Comparative study of Hepatocyte Growth Factor/ Scatter Factor and Keratynocyte Growth Factor effects on human keratynocytes. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 958-963.
36. Yi ES, Bedoya AA, Lee H, Kim S, Housley RM, Aukerman SL, Tarpley JE, Starnes C, Yin S, Pierce GF, Ulich TR. Keratinocyte growth factor causes cystic dilation of the mammary glands of mice. Interactions of keratinocyte growth factor, estrogen, and progesterone *in vivo*. *Am J Pathol* 1994; 145: 1015-1022.
37. Finch PW, Rubin JS. Keratinocyte Growth Factor/Fibroblast Growth Factor 7, a homeostatic factor with therapeutic potential for epithelial protection and repair. *Adv Cancer Res.* 2004; 91: 69-136.
38. Chin D, Boyle GM, Parsons PG, Coman WB. What is Transforming Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ )?. *The British Association of Plastic Surgeons* 2004; 57: 215-221.
39. Lau AL, Shou W, Guo Q, Matzuk MM. Transgenic approaches study the functions if the Transforming Growth Factor- $\beta$  superfamily members. En: Aono T, Sugino H, Vale W. *Inhibin Activin and Follistatin. Regulatory functions in system and cell biology.* Ed. Springer-Verlag. New York (USA), 1997; p. 22-43.
40. Pasche B. Role of Transforming Growth Factor  $\beta$  in cancer. *J Cell Physiol* 2001; 186: 153-168.
41. Beck LE, Amman AJ, Aufdemorte TB, Deguzman L, Xu Y, Lee WP, McFatrige LA, Chen TL. *In vivo* induction of bone by recombinant human Transforming Growth Factor  $\beta$ 1. *J Bone Min Res* 1991; 6: 961-967.
42. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience* 2004; 9 (1): 283-289.
43. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte Growth Factor: Renotropic role and potential therapeutics for renal diseases. *Kidney int* 2001; 59: 2023-2038.
44. Hubner G, Alzheimer C, Werner S. Activin: a novel player in tissue repair processes. *Histol Histopathol* 1999; 14: 295-304.
45. Hogan BLM. Bone morphogenetic proteins in development. *Cur Op Gen Develop* 1996; 6: 432-438.
46. Zou H, Niswander L. Requirement of BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. *Science* 1996; 272: 738-741.
47. Tateyama S, Uchida K, Hidaka T, Hirao M, Yamaguchi R. Expression of Bone Morphogenetic Protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells in canine mammary gland tumors. *Vet Pathol* 2001; 38: 703-709.
48. Kalluri R, Zeisberg M. Exploring the connection between chronic renal fibrosis and bone morphogenic protein-7. *Histol Histopathol* 2003; 18: 217-224.
49. Gamer LW, Nove J, Rosen V. Return of the Chalcones. *Developmental Cell* 2003; 4: 143-151.
50. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002; 143: 1076-1084.
51. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2001; 32 (1): 19-31.
52. Martin TA, Watkins G, Mansel RE, Jiang WG. Hepatocyte growth factor disrupts tight junctions in human breast cancer cells. *Cell Biology International* 2004; 28: 361-371.
53. Ferrara N. Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 581-611.
54. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Tumor Growth and Angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1011-1027.
55. Carmeliet P. Mechanism of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Med* 2000; 6: 389-395.
56. Plate KH. From angiogenesis to lymphangiogenesis. *Nature Med* 2001; 7: 151-152.
57. Lecouter J, Kowaiski J, Foster J, Hass P, Zhang Z, Dillard-Telm L, Frantz J, Rangell L, Deguzman L, Keller G, Peale F, Gurney A, Hillan K, Ferrara N. Identification of an angiogenic mitogen selective for endocrine gland endothelium. *412:877-884. Nature* 2001; 412: 877-884.
58. Kullander K, Klein R. Mechanisms and functions of Eph and ephrin signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 475-486.
59. Shah M, Revis D, Herrick S, Baillie R, Thorgeirson S, Ferguson M, Roberts A. Role of elevated plasma Transforming Growth Factor  $\beta$ -1 levels in wound healing. *Am J Pathol* 1999; 154: 1115-1124.
60. Jiang GW, Martina TA, Parr C, Davies G, Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor, its receptor, and their potential value in cancer therapies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2005; 53: 35-69.