

Hormonas, factores de crecimiento y oncoproteínas

Enrique Pimentel

Centro Nacional de Genética, Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela

Las hormonas y los factores peptídicos de crecimiento celular (usualmente llamados en forma abreviada “factores de crecimiento”) son importantes agentes de regulación y coordinación presentes en los organismos metazoarios. Estas sustancias constituyen señales biológicas implicadas en la regulación del crecimiento y diferenciación celulares, así como también en el control de diversos procesos metabólicos específicos y funciones orgánicas durante la vida prenatal y postnatal. Ciertas hormonas y factores de crecimiento actúan en una manera restringida sobre tipos específicos de células blancas mientras que otras tienen un espectro amplio, quizás universal, de actividad para diferentes tipos de células y tejidos.

Las hormonas se pueden definir como mensajeros químicos extracelulares que son sintetizados y secretados por las glándulas endocrinas. Ellas pasan a la circulación sanguínea y llegan a los respectivos tejidos y órganos blancos, donde son ligadas con alta afinidad a sitios celulares específicos llamados receptores hormonales. La formación del complejo hormona-receptor determina las respuestas biológicas que son específicas para ambos, la hormona y la célula blanca. Las hormonas son agentes químicos crucialmente implicados en la regulación integrada y modulación de las múltiples funciones diferenciadas de los tejidos y órganos en los organismos multicelulares. El sistema neural y el sistema endocrino tienen funciones parcialmente superpuestas relacionadas con la coordinación de procesos biológicos complejos y son componentes de una estructura integrativa llamada sistema neuroendocrino.

En contraste con las hormonas, los factores de crecimiento no son sintetizados en órganos endocrinos especializados, sino son generalmente producidos y secretados por células de diferentes tejidos y sus células blancas están frecuentemente

localizadas no lejos del sitio donde ellos son producidos (respuesta paracrina). Aun la propia célula que produce un factor de crecimiento puede en ciertos casos responder a este factor, cuando ella está dotada del receptor específico (respuesta autocrina). Sin embargo, en ciertos casos los factores de crecimiento se comportan de manera similar a las hormonas, circulando con los líquidos corporales y pueden producir respuestas fisiológicas en sitios relativamente lejanos a su lugar de origen.

Diferentes tipos de factores de crecimiento son producidos tanto por células normales como por células neoplásicas. Los factores de crecimiento son componentes importantes de los medios que se usan para el cultivo de células *in vitro*. Ellos tienen un papel esencial en la supervivencia celular *in vivo* y en los mecanismos que regulan el crecimiento y desarrollo de una diversidad de órganos y tejidos. Factores de crecimiento específicos promueven la diferenciación y/o proliferación de distintos tipos de células durante la vida intrauterina y extrauterina. Agentes tales como los factores de crecimiento de fibroblastos (FGFs) y el factor transformante tipo beta (TGF-beta) están crucialmente implicados en la inducción del mesodermo durante el desarrollo de los vertebrados.

Los factores de crecimiento están involucrados en procesos fisiológicos tales como la inflamación, las respuestas inmunes y la reparación de tejidos. La reparación de heridas requiere un estricto control de procesos de tipo regenerativo y degradativo e implica a numerosos tipos de células y a complejas interacciones entre múltiples vías bioquímicas. Agentes tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el FGF ácido, el FGF básico, el TGF-alfa y TGF-beta, liberados en áreas traumatizadas tienen un papel esencial en la regulación de los procesos de reparación y regeneración de órganos

y tejidos. Los efectos de estos factores en relación a la curación de heridas incluyen la promoción de la migración celular hacia el área de la herida (quimiotaxia), la estimulación del crecimiento de células epiteliales y fibroblastos (mitogénesis), la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) y la formación de matrices y remodelación de la región afectada.

Los factores de crecimiento tienen un papel importante en los procesos patológicos comunes tales como la arterioesclerosis y el cáncer. El crecimiento y función alterada de células malignas pueden depender, al menos en parte, de la actividad de factores de crecimiento, que son producidos y utilizados en cantidades inapropiadas por las propias células tumorales a través de mecanismos de tipo autocrino. Más de un asa autocrina puede estar activa en células tumorales tales como células de cáncer del páncreas. Una regulación alterada de membranas basales y componentes de la matriz extracelular por factores de crecimiento es probablemente esencial para la invasión de tejidos normales por células tumorales.

Las propiedades biológicas de factores de crecimiento pueden ser estudiadas tanto *in vitro* como *in vivo*. El aislamiento y la caracterización de factores de crecimiento pueden ser facilitados por el cultivo de células en medios definidos libres de proteínas. El componente sérico no definido del medio de cultivo de tejido puede ser reemplazado por mezclas específicas de nutrientes, hormonas, factores de crecimiento y proteínas transportadoras de iones metálicos. Bioensayos han sido usados como el método inicial para la detección de factores de crecimiento. Ellos requieren el descubrimiento y caracterización de un evento morfológico, fisiológico o bioquímico que dependa específicamente de un factor de crecimiento en animales intactos, fragmentos de tejidos o células cultivadas. La actividad biológica de factores de crecimiento puede ser examinada en ensayos de cultivo de órganos o en sistemas de ensayo de colonias. Cada uno de estos métodos tiene ventajas y desventajas particulares. Mientras que el cultivo de órganos puede ser un método mejor para la pesquisa de posibles factores de crecimiento, el ensayo de colonias puede proveer resultados cuantitativos para análisis estadísticos. Los factores de crecimiento son definidos por su capacidad para estimular la multiplicación de células blanco y su actividad es medida por ensayos donde se determina el aumento de poblaciones celulares o

la incorporación de timidina en el ácido desoxiribonucleico (DNA). Después del aislamiento guiado por bioensayo, el factor purificado puede ser utilizado para desarrollar antisueros para su análisis por inmunodifusión o radioinmunoensayo, así como también por inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) y ensayo de receptor de membrana. Anticuerpos policlonales o monoclonales pueden ser desarrollados usando oligopéptidos sintéticos con secuencias de aminoácidos que correspondan a algunas secuencias presentes en el factor de crecimiento. Estos anticuerpos pueden ser usados para la precipitación específica de factores de crecimiento, así como también para su localización mediante estudios de tipo histoquímico y citoquímico.

Una lista de hormonas, factores de crecimiento y otros agentes de origen celular con propiedades de regulación, de crecimiento aparece en el Cuadro 1.

Cuadro 1

Factores de crecimiento, hormonas y otros agentes de origen celular reguladores de crecimiento.

Factores de crecimiento bien caracterizados

Factor insulinoide tipo I (IGF-I) o somatomedina C
 Factor insulinoide tipo II (IGF-II) o somatomedina A
 Factor de crecimiento epidérmico (EGF)
 Factores de crecimiento fibroblástico (FGF ácido y FGF básico)
 Factor de crecimiento nervioso (NGF)
 Factor de crecimiento de hepatocitos (HCGF)
 Factores de crecimiento transformantes (TGF-alfa y TGF-beta)
 Factor de crecimiento de células hematopoyéticas troncales (SCGF)
 Factor estimulante de crecimiento de colonias macrofágicas (M-CSF o CSF-1)
 Factor estimulante de crecimiento de colonias granulocíticas y macrofágicas (GM-CSF o CSF-2)
 Factor estimulante de crecimiento de colonias granulocíticas (G-CSF o CSF-3)
 Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)

Factores de crecimiento parcialmente caracterizados

Mitógenos similares al EGF
 Factores de crecimiento similares a los TGF
 Factores de crecimiento similares al PDGF
 Factor de crecimiento de melanocitos (MGF)
 Factores de crecimiento prostático
 Factor de crecimiento derivado de cartílago (CDGF)
 Factor de crecimiento de condrocitos (CGF)
 Factor de crecimiento derivado de hueso (BDGF)
 Factor de crecimiento derivado de osteosarcoma (ODGF)

Cuadro 2

Localización cromosómica de los genes para hormonas y factores de crecimiento y sus respectivos receptores.

| | C | Localización | Hormona o factor |
|---|----|---------------|----------------------------|
| Factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) | | | |
| Neurotrofina-3 (NT-3) | | | |
| Neurotrofina-4 (NT-4) | | | |
| Factor promotor del crecimiento glial (GCPF) | | | |
| Factor de crecimiento básico del calostro (CBGF) | | | |
| Factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF) | | | |
| Factor angiogénico tumoral (TAF) | 1 | 1p13-p21 | CSF-1 |
| Factor estimulante de linfocitos B (BSF-2) | 1 | 1p21-p22.1 | NGF |
| Factor de crecimiento de linfocitos B (BCDF) | 2 | 2p11-p13 | TGF-alfa |
| Factor de crecimiento derivado de leucemia (LDGF) | 2 | 2q13 | IL-1-alfa |
| Factor de crecimiento mielomonocítico (MMGF) | 2 | 2q13-q21 | IL-1-beta |
| Factor de crecimiento derivado de macrófagos (MDGF) | 3 | 3p21-p25 | Hormona tiroidea (R-beta) |
| Actividad potenciadora eritroide (EPA) | 3 | 3q15-q25 | Transferrina |
| <u>Citokinas e interleukinas</u> | 3 | 3q26.2 | Transferrina (R) |
| Interleukina 1 (IL-1) | 4 | 4q11-q12 | PDGF (R-alfa) |
| Interleukina 2 (IL-2) | 4 | 4q25-q27 | EGF |
| Interleukina 3 (IL-3) | 4 | 4q26-q27 | FGF básico |
| Interleukina 4 (IL-4) | 4 | 4q26-q28 | IL-2 |
| Interleukina 5 (IL-5) | 5 | 5p12-p13.1 | Hormona de crecimiento (R) |
| Interleukina 6 (IL-6) | 5 | 5p13-p14 | Prolactina (R) |
| Interleukina 7 (IL-7) | 5 | 5q21-p32 | CFS-2 |
| Interleukina 8 (IL-8) | 5 | 5q23-q31 | IL-3 |
| Interleukina 9 (IL-9) | 5 | 5q23.3-q31.2 | IL-4 |
| Interleukina 10 (IL-10) | 5 | 5q31 | IL-5 |
| Interleukina 11 (IL-11) | 5 | 5q31-q32 | PDGF (R-beta) |
| Interleukina 12 (IL-12) | 5 | 5q31-q32 | Glucocorticoide (R) |
| Interferón alfa (IFN-alfa) | 5 | 5q31.2-q33.2 | ECGF |
| Interferón beta (IFN-beta) | 5 | 5q33.1 | CSF-1 |
| Interferón gamma (IFN-gamma) | 5 | 5q33.2-p33.3 | CSF-1 (R) |
| Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) o caquectina | 6 | 6p21.3 | TNF-beta |
| Factor de necrosis tumoral beta (TNF-beta) o linfotoxina | 6 | 6p21.1-p22 | TNF-alfa |
| <u>Hormonas y otros agentes reguladores del crecimiento</u> | 6 | 6q16-q22 | IFN-gamma (R) |
| Insulina | 6 | 6q24-q27 | Estrógeno (R) |
| Hormona de crecimiento o somatostatina | 7 | 7p12-p14 | EGF (R) |
| Hormona estimulante de la tiroides (TSH) o tirotrópina | 7 | 7p12-p14 | IGF-BP-1 |
| Hormona adrenocorticotrófica (ACTH) o corticotropina | 7 | 7q21 | Eritropoietina |
| Hormona foliculo-estimulante (FSH) | 7 | 7p21-p22 | PDGF-A |
| Hormona luteinizante (LH) | 7 | | IL-6 |
| Gonadotropina coriónica (CG) | 8 | 8p12 | FGF (R) |
| Prolactina | 8 | 8q12-q13 | IL-7 |
| Hormona estimulante de melanocitos (MSH) | 8 | 8q23-q24.3 | Tiroglobulina |
| Lactógeno placentario | 9 | 9p22 | IFN-alfa e IFN-beta |
| Hormonas tiroideas (triyodotironina y tiroxina) | 10 | 10p14-p15 | IL-2 (R-Tac) |
| Hormona paratiroidea (PTH) | 11 | 11p11.21 | PTH |
| Calcitonina | 11 | 11p14.1 | Insulina |
| Hormonas esteroides (andrógenos, estrógenos, gestágenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, calcitriol) | 11 | 11p15 | IGF-II |
| Transferrina | 11 | 11q22 | Progesterona (R) |
| Eritropoyetina | 12 | 12q22-q24.1 | IGF-I |
| | 12 | | IFN-gamma |
| | 14 | 14q23-q24 | TGF-beta-3 |
| | 15 | 15p25-p26 | IGF-I(R) |
| | 17 | 17q11 | CSF-3 |
| | 17 | 17q11.2 | Hormona tiroidea (R-alfa) |
| | 17 | 17q12-q22 | NGF (R) |
| | 17 | 17q22-q24 | Hormona de crecimiento |
| | 17 | 17q22-q24 | Lactógeno placentario |
| | 19 | 19p13.2-p13.3 | Insulina (R) |

Datos disponibles acerca de la localización en los cromosomas humanos de los genes que codifican parahormonas y factores de crecimiento se indican en el Cuadro 2.

HORMONAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y ONCOPROTEINAS

| | | |
|----|---------------|--------------------|
| 19 | 19q13.1-q13.3 | TGF-beta-1 |
| 19 | 19p | Eritropoietina (R) |
| 21 | 21q | IFN-alfa (R) |
| 22 | 22q12-q13 | IL-2 (cadena beta) |
| 22 | 22q13.1 | PDGF-B |
| X | Xp11.1-p11.4 | EPA |
| X | Xq11-q12 | Andrógeno (R) |

Nota: La letra C, indica Cromosoma. La letra p indica el brazo corto de un cromosoma y la letra q el brazo largo. Los números que siguen a estas letras indican el sitio respectivo a nivel del cromosoma (banda cromosómica). La letra (R) indica el receptor celular de la hormona o factor de crecimiento.

Papel de hormonas y factores de crecimiento en la regulación de la proliferación y diferenciación celular

Los mecanismos moleculares implicados en la regulación de la proliferación y diferenciación celular son poco conocidos, pero ellos son especificados y coordinados por el programa genético propio de cada organismo. El cumplimiento de un equilibrio normal entre la proliferación y la diferenciación celular es de máxima importancia durante el desarrollo de los organismos multicelulares. La información genética que es transmitida de una generación a la siguiente en cada una de las especies biológicas contiene un programa intrínseco de desarrollo orgánico, el cual controla de manera precisa los procesos ontogénicos, y el desarrollo normal en cada individuo depende de la lectura de este programa en una secuencia espacial y temporal exacta. Una secuencia precisa de eventos morfológicos, dictada por una interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, se cumple durante la ontogenia y resulta en la formación de órganos y tejidos con funciones especializadas. Las hormonas y los factores de crecimiento constituyen factores ambientales endógenos capaces de regular la expresión de las múltiples potencialidades contenidas en el genoma. Tanto las hormonas como los factores de crecimiento desempeñan un papel de suma importancia en la regulación de los procesos de desarrollo de órganos y tejidos y alteraciones en el delicado balance que existe entre ellos puede resultar en la producción de anomalías dismorfogénicas.

Factores de crecimiento producidos por embriones antes y después de su implantación pueden ser importantes para los complejos procesos relacionados con la embriogénesis. El análisis de las

secuencias de ácido ribonucleico (RNA) realizado mediante una combinación de transcripción reversa y amplificación del DNA complementario (cDNA), transcrito en una reacción de polimerasa en cadena (PCR) ha permitido la caracterización de factores de crecimiento requeridos para la preimplantación de embriones de ratón. Genes de TGF-alfa, TGF-beta y PDGF son expresados en blastocistos de ratón, mientras que genes de EGF, FGF básico, factor de crecimiento nervioso (NGF) y factor estimulante de colonias 3 (CSF-3) no son transcritos. Los factores de crecimiento expresados por embriones de mamíferos probablemente están dirigidos hacia tejidos maternos y pueden tener un papel importante en la angiogénesis temprana y decidualización del útero. También es posible que factores de crecimiento de origen embrionario estén dirigidos a blancos intraembrionarios durante el período de preimplantación, pero ello será determinado con seguridad, solamente cuando receptores funcionales de estos factores sean mejor caracterizados en los embriones.

Los efectos de diversas hormonas y factores de crecimiento en procesos de mitogénesis y diferenciación celular han sido caracterizados mediante estudios en sistemas celulares apropiados, in vitro. El requerimiento de diferentes tipos de células para la supervivencia y el crecimiento en cultivo es variable. La diferenciación terminal de células musculares (diferenciación miogénica) es regulada por un equilibrio entre la acción de factores inductores de diferenciación, tales como los factores insulinoideos (IGFs) y los FGFs, y la acción de factores inhibidores de la diferenciación, tales como los TGFs.

Mientras que algunos tipos de células muestran una capacidad restringida de respuesta a diferentes hormonas y factores de crecimiento, otros tipos de células pueden responder a un amplio espectro de estos agentes. Células mesoteliales humanas normales mantenidas en reposo durante cultivo in vitro, pueden entrar en síntesis de DNA cuando son incubadas en medios definidos suplementados con insulina, cortisol, transferrina y uno de los siguientes mitógenos: EGF, TGF-beta, PDGF, FGF, interleukina 1 (IL-1), IL-2, interferón beta (IFN-beta) o toxina colérica. El promedio de aumento de crecimiento celular causado por los diferentes mitógenos es similar, aun cuando ellos reconocen diferentes receptores y activan el crecimiento de células por vías diferentes. La multiplicación sostenida de células mesoteliales requiere, en adición

a los factores arriba mencionados, la presencia en el medio de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

La regulación de la proliferación y diferenciación celular por hormonas y factores de crecimiento se realiza después de la unión con el receptor, a través de la acción de señales que incluyen mediadores intracelulares que interactúan con secuencias genómicas reguladoras específicas y que pueden modificar, sea en sentido positivo o negativo, la expresión de genes individuales o grupos específicos de genes. Las secuencias genómicas implicadas en la regulación de la expresión de genes incluyen elementos reguladores positivos, tales como los promotores y los aumentadores, y elementos reguladores negativos, llamados silenciadores. Mientras que las secuencias promotoras están localizadas dentro o muy cerca del gene que es regulado, generalmente hacia su lado 5', los aumentadores pueden estar localizados lejos del gene y en cualquier orientación, 5' ó 3'. Productos de proto-oncogenes localizados a nivel de la membrana plasmática, del citoplasma o del núcleo, pueden estar implicados en los mecanismos celulares de acción de las hormonas y factores de crecimiento y pueden contribuir, directa o indirectamente, a la regulación de funciones genómicas.

Secuencias genéticas representadas por genes homeóticos (homeoboxes) tienen un papel esencial en la regulación de procesos de desarrollo. Estos genes fueron descubiertos a través de su papel en la segmentación que ocurre durante el desarrollo en la mosca *Drosophila*, pero genes homólogos o genes que contienen regiones homeóticas, están presentes en los vertebrados, incluyendo la especie humana. No menos de 20 genes que contienen homeoboxes han sido detectados en el genoma humano y la localización cromosómica de algunos de estos genes ha sido determinada. Los productos proteicos de los genes que contienen homeoboxes pueden estar relacionados con la regulación de funciones genómicas a través de sus propiedades de ligar DNA. Inesperadamente, se ha encontrado que algunos genes homeóticos muestran homología estructural con genes que codifican para factores de crecimiento, tales como EGF y TFG-alfa. Poco se sabe, sin embargo, acerca de los posibles efectos regulatorios de hormonas y factores de crecimiento sobre la expresión de genes homeóticos.

Factores de competencia y de progresión

Hormonas y factores de crecimiento contenidos

en el suero son requeridos para el crecimiento de células cultivadas *in vitro*. Fibroblastos privados de suero cesan de crecer y la readición de suero al medio causa que las células entren en la fase S, casi sincrónicamente después de un lapso de unas 16 horas. Aunque cada uno de los factores contenidos en el suero puede tener un efecto diferencial sobre la síntesis de DNA, RNA y proteínas y la división de tipos particulares de células, la acción combinada de ello se requiere para un óptimo crecimiento de células. Algunos factores, llamados factores de competencia, actúan sobre células que están en las fases G0 o G1 del ciclo, convirtiendo las células en competentes para la replicación (duplicación) del DNA. Otros factores de crecimiento, llamados factores de progresión, permitirían la progresión de células a través de la fase de prereplicación del ciclo, induciendo a las células a llegar a las fases S, G2 y M del ciclo. En cultivos de fibroblastos de ratón, PDGF se comporta como un factor de competencia, haciendo a las células frenadas en G0, competentes para progresar hacia la fase S del ciclo en respuesta a factores de progresión tales como EGF y IGFs. Por otra parte, los IGFs estimulan la síntesis de DNA específicamente en células competentes cebadas con EGF. Los factores de competencia y progresión pueden por tanto actuar de manera secuencial y sinérgica en el ciclo celular. La acción similar de algunos factores de crecimiento en la fase prereplicativa sugiere la acción de ciertas vías intracelulares comunes.

La clasificación de factores de crecimiento en factores de competencia y progresión tiene limitaciones. Dependiendo del tipo de célula, un mismo factor puede actuar tanto de competencia como de progresión. Por ejemplo, en el sistema hematopoyético IL-3 puede actuar sobre líneas celulares dependientes de IL-3 como un factor de competencia, capaz de inducir una transición de fase G0 a G1, y si la exposición persiste, como un factor de progresión capaz de inducir a células competentes a moverse de la fase G1 a la fase M.

El modelo de acción secuencial de factores de competencia y progresión está basado en estudios hechos con fibroblastos murinos en cultivo y su validez general debe ser considerada con precaución. Los procesos reguladores ejercidos por ciertos factores de crecimiento en otros sistemas, por ejemplo, en la proliferación de células epiteliales tales como hepatocitos, pueden ser mucho más complicados y menos bien definidos. En contraste

con el modelo murino, EGF como factor único es capaz de inducir las señales necesarias para la estimulación mitogénica de fibroblastos embrionarios de rata EL2. La regulación de la proliferación in vitro de fibroblastos humanos por factores de crecimiento no parece estar de acuerdo con un modelo de ciclo celular del tipo de competencia y progresión. Las células humanas cultivadas en un medio químicamente definido, libre de suero, responden a la presencia de EGF, IGF-1, transferrina y dexametasona, sin PDGF, con un crecimiento extenso y rápido, lo cual arguye que estas células no tienen requerimiento para un "factor de competencia". El PDGF tiene en células humanas un efecto similar al del EGF, con regulación de la fracción de células en ciclo activo, mientras que el IGF-1 ejerce su efecto primario regulando la tasa de salida de fase G1 a S sin afectar dicha fracción.

Los mecanismos precisos por los cuales hormonas y factores de crecimiento son capaces de regular la replicación del DNA y la división celular son desconocidos, pero ellos no parecen estar representados por una regulación directa de enzimas implicadas en la replicación del DNA. Probablemente estos mecanismos son de naturaleza compleja e implican componentes de diversos compartimentos celulares, desde la membrana, a través del citoplasma, hasta llegar al núcleo.

Respuesta de células a hormonas y factores de crecimiento

La capacidad de respuesta de células a la acción mitogénica de hormonas y factores de crecimiento puede ser muy variable in vivo, según el estado de desarrollo y diferenciación. En general, la diferenciación está asociada con una reducción progresiva del potencial de proliferación celular. Sin embargo, la relación precisa que existe entre diferenciación y respuesta mitogénica no ha sido establecida todavía en forma clara. Células mesenquimatosas de ratón detenidas en una etapa de prediferenciación muestran requerimientos de factores de crecimiento celulares similares para iniciar la síntesis de DNA en etapas reversibles de detención de crecimiento. Los procesos de diferenciación normal están asociados con una disminución progresiva en la capacidad de respuesta a factores de crecimiento.

Células fibroblásticas murinas individuales cultivadas en bajas concentraciones de suero muestran heterogeneidad en su capacidad de crecimiento. La heterogeneidad en sensibilidad frente a factores de

crecimiento se origina con frecuencia extremadamente alta dentro de un clono, sugiriendo que la capacidad de células para responder a ciertos factores de crecimiento puede depender de algún componente celular que está distribuido desigualmente en la población celular. En general, células de animales recién nacidos tienen capacidad de respuesta mitogénica a factores de crecimiento mayores que la de células de animales adultos. Las capacidades de repuesta de fibroblastos humanos a hormonas y factores de crecimiento contenidos en suero fetal de ternera, disminuyen con la edad. Sin embargo, algunos factores de crecimiento pueden inducir cambios prereplicativos aun en fibroblastos humanos senescentes.

La respuesta de células a hormonas y factores de crecimiento puede persistir más allá del tiempo de exposición al agente exógeno. Por ejemplo, la administración de una sola dosis de estradiol es suficiente para inducir en forma permanente la expresión del RNA mensajero para el receptor de estrógenos en el hígado de sapos machos. La exposición transitoria del animal a la hormona puede establecer un asa autocrina o la activación de un grupo específico de genes que responden a la hormona. Sin embargo, el mecanismo molecular preciso de este fenómeno no ha sido caracterizado todavía.

Parámetros ambientales pueden ejercer una gran influencia sobre la respuesta de células a factores de crecimiento. Concentraciones de oxígeno dentro del rango fisiológico pueden controlar el patrón de proliferación de fibroblastos humanos diploides en cultivo, mediante modulación de sus respuestas al suero y factores de crecimiento tales como EGF y PDGF. La exposición de células durmientes a concentración de oxígeno reducida aumenta la síntesis de DNA inducida por suero en una manera dependiente del tiempo. La concentración de oxígeno puede controlar la proliferación celular en forma indirecta, por la alteración de la actividad de algún factor intermediario estable que regule la respuesta celular a factores de crecimiento.

Como regla general, células neoplásicas dependen menos de la suplencia exógena de hormonas y factores de crecimiento que las células normales. La progresión de células tumorales a niveles más altos de comportamiento maligno está asociada con frecuencia a un aumento de la autonomía celular frente a una suplencia exógena de hormonas y factores de crecimiento. La leucemia murina, por ejemplo, ocurre a través de un proceso escalonado

en el cual las células hematopoyéticas, con potencial tumorigénico limitado, progresan lentamente hasta convertirse en relativamente autónomas, independientes de la suplenencia de factores de crecimiento y de una interacción con el microambiente condicionado por el estroma celular, la cual contribuye críticamente a regular el crecimiento y la diferenciación de células hematopoyéticas normales. Sin embargo, el crecimiento tumoral no está siempre asociado con una autonomía frente a la suplenencia exógena de factores específicos de crecimiento. Además la respuesta proliferativa de células neoplásicas a factores de crecimiento puede mostrar gran variación, de acuerdo a influencias tales como el microambiente y la presencia de anomalías cromosómicas. La progresión de tumores hormono-dependientes puede depender de alteraciones en la expresión de genes específicos. No solamente las células malignas sino también células de tumores benignos, por ejemplo, fibroblastos derivados de

queloides, pueden tener requerimientos reducidos para la presencia de factores de crecimiento en el medio de cultivo. Por tanto, un requerimiento disminuido para la respuesta exógena de factores de crecimiento no es una propiedad exclusiva de las células malignas.

Oncogenes, proto-oncogenes y genes supresores de tumores

Evidencia derivada de estudios multidisciplinarios indica la existencia de importantes relaciones mutuas entre hormonas y factores de crecimiento, oncogenes y proto-oncogenes, y procesos oncogénicos. Los oncogenes son genes con capacidad potencial para la inducción de transformación neoplásica en condiciones tanto naturales como experimentales. La mayoría de los oncogenes han sido aislados de retrovirus agudos, los cuales actúan como transductores de oncogenes en diversas especies de vertebrados (Cuadro 3).

Cuadro 3

Retrovirus agudos y sus respectivos oncogenes.

| Oncogene | Origen | Prototipo de retrovirus |
|----------|---------|--|
| abl | roedor | virus de leucemia murina de Abelson (A-muLV) |
| crk | ave | virus de sarcoma aviario CT10 (CT10-ASV) |
| erb-A | ave | virus de eritroblastosis aviaria (AEV) |
| erb-B | ave | virus de eritroblastosis aviaria (AEV) |
| ets | ave | virus de leucemia aviaria E26 (E26-ALV) |
| fes | felino | virus de sarcoma felino de Snyder-Theilen (ST-FeSV) |
| fgr | felino | virus de sarcoma felino de Gardner-Rasheed (GR-FeSV) |
| fms | felino | virus de sarcoma felino de McDonough (MD- FeSV) |
| fos | roedor | virus de osteosarcoma murino FBJ (FBJ-MOV) |
| jun | ave | virus de sarcoma aviario ASV-17 (ASV17-ASV) |
| maf | ave | virus de fibrosarcoma aviario AS42 (AFV AS42) |
| mht | ave | virus de carcinoma aviario Mill Hill 2 (MH2- ACV) |
| mos | roedor | virus de sarcoma murino de Maloney (M-MuSV) |
| myb | ave | virus de mieloblastosis aviaria (AMV) |
| myc | ave | virus de mielocitomatosis aviaria MC29 (MC29-AMCV) |
| raf | roedor | virus de sarcoma murino 3611 (3611-MuSV) |
| H-ras | roedor | virus de sarcoma murino de Harvey (H-MuSV) |
| K-ras | roedor | virus de sarcoma murino de Kirsten (K-MuSV) |
| rel | ave | virus de reticuloendoteliosis aviaria (ARV) |
| ros | ave | virus de sarcoma aviario Rochester UR11 (UR11-ASV) |
| sis | primate | virus de sarcoma simiano (SSV) |
| ski | ave | virus aviario Sloan-Kettering (SKV) |
| src | ave | virus de sarcoma de Rous (RSV) |
| yes | ave | virus de sarcoma aviario de Yamaguchi (Y-ASV) |

HORMONAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y ONCOPROTEINAS

Los retrovirus agudos se caracterizan por tener un genoma de tipo RNA defectuoso, lo cual les impide la capacidad de replicar y de producir partículas virales maduras. Estos virus no son, por tanto, agentes infecciosos en condiciones naturales. Ellos han sido aislados de diferentes tipos de tumores y se forman por eventos de recombinación que ocurren entre secuencias de origen celular y secuencias derivadas de retrovirus crónicos infecciosos. Mientras que el genoma de los retrovirus agudos se caracteriza por la presencia de oncogenes, los retrovirus crónicos no contienen oncogenes en su genoma. Los oncogenes presentes en los retrovirus agudos son responsables del potencial oncogénico marcado que poseen estos virus. Los oncogenes virales tienen su origen en secuencias génicas de origen celular, llamadas proto-oncogenes. Algunos proto-oncogenes no han sido detectados en retrovirus agudos, sino han sido aislados directamente del genoma celular. Los proto-oncogenes son genes celulares normales que están presentes en todas las especies de vertebrados estudiadas hasta el presente y están también presentes en invertebrados e inclusive en algunos organismos unicelulares. De acuerdo con criterios generalmente aceptados, el número total de proto-oncogenes está limitado a cerca de 50. Una lista de los proto-oncogenes humanos, con su respectiva localización cromosómica, aparece en el Cuadro 4 y está representada en el idiograma humano de la Figura 1.

Cuadro 4

Localización cromosómica de los proto-oncogenes humanos

| C | Localización | Proto-oncogene |
|---|--------------|----------------|
| 1 | 1p11-p13 | N-ras |
| 1 | 1p31-p32 | jun |
| 1 | 1p32 | L-myc |
| 1 | 1p32 | B-lym-1 |
| 1 | 1p32-p35 | lck/lsk/tck |
| 1 | 1p36.1-p36.2 | fgr |
| 1 | 1q22-q24 | ski |
| 1 | 1q24-q25 | arg |
| 1 | 1q23-q24 | trk |
| 2 | 2p12-p13 | rel |
| 2 | 2p23-p24 | N-myc |
| 3 | 3p21-p25 | erb-A-2 |
| 3 | 3p25 | raf-1/mil |
| 4 | 4q11-q12 | kit |
| 4 | 4q13-q21 | erb-B-3 |
| 5 | 5q34 | fms |

| | | |
|----|---------------|-------------|
| 6 | 6p11-p12 | K-ras-1 |
| 6 | 6p23-q12 | yes-2 |
| 6 | 6p21 | pim |
| 6 | 6q21 | fyn-syn-slk |
| 6 | 6q22 | ros |
| 6 | 6q22-q23 | myb |
| 7 | 7p12-p14 | erb-B-1 |
| 7 | 7p14-q21 | A-raf-2 |
| 7 | 7q21-q31 | met |
| 8 | 8p12 | flg |
| 8 | 8q13 | lyn |
| 8 | 8q22 | mos |
| 8 | 8q24 | myc |
| 9 | 9q34.1 | abl |
| 10 | 10q11.2 | ret |
| 11 | 11p14.1 | H-ras-1 |
| 11 | 11q13 | int-2 |
| 11 | 11q13 | hst |
| 11 | 11q13.3 | bcl-1 |
| 11 | 11q23-q24 | ets-1 |
| 12 | 12p11.1-p12.1 | K-ras-2 |
| 12 | 12q13 | int-1 |
| 13 | 13q12 | flt |
| 14 | 14q24.3-q31 | fos |
| 15 | 15q26.1 | fes |
| 17 | 17p13 | p53 |
| 17 | 17q11.2 | erb-A-1 |
| 17 | 17q21 | neu/erb-B-2 |
| 18 | 18q21 | bcl-2 |
| 18 | 18q21.3 | yes-1 |
| 19 | 19p12-p13.2 | vav |
| 19 | 19p13.2-q13.2 | mel |
| 20 | 20q11-q12 | hck |
| 20 | 20q11.2 | src |
| 21 | 21q22.1-q22.3 | ets-2 |
| 22 | 22q13.1 | sis |
| X | Xp21-q11 | A-raf-1 |
| X | Xq27 | mcf-2 |

C = Cromosoma

Funciones de los productos proteicos de los proto-oncogenes

Las funciones normales de los productos proteicos de los proto-oncogenes se conocen sólo en parte, pero la mayoría de estos productos está implicada en la regulación intracelular de procesos metabólicos específicos, o en procesos asociados con la proliferación y diferenciación celular. Estos hechos indican la existencia de complejas interacciones entre los productos proteicos de proto-oncogenes y los mecanismos de acción de las hormonas y factores de crecimiento a nivel celular. La expresión de proto-oncogenes está sujeta a una regulación



FOTO 1

Reducir a 16 x 19 cm

Conservar recuadro

Figura 1. Idiograma de los cromosomas humanos donde se indican los loci que ocupan los proto-oncogenes

dependiente del desarrollo y que es específica del tejido. Las hormonas y factores de crecimiento tienen un papel importante en la regulación de la

expresión de proto-oncogenes. Por otra parte, existen estrechas relaciones entre las hormonas, los factores de crecimiento, los receptores para hormonas y

factores de crecimiento, y los productos proteicos de los proto-onco-genes. Ciertos proto-oncogenes codifican para factores de crecimiento o para receptores de hormonas y factores de crecimiento. Además de estas identidades, hay estrechas homologías estructurales y funcionales entre productos proteicos de oncogenes (oncoproteínas) y las hormonas y factores de crecimiento, sus receptores, u otras proteínas celulares con funciones regulatorias (Cuadro 5).

Cuadro 5

Homologías entre oncoproteínas y hormonas o factores de crecimiento, sus receptores y otras proteínas celulares.

| Oncoproteína | Proteína celular |
|--------------|----------------------------------|
| Src | Receptores de insulina e IGF-I |
| Erb-B-1 | Receptor de EGF (*) |
| Mos | Precursor de EGF |
| Sis | PDGF-B (*) |
| Erb-A | Receptor de hormona tiroidea (*) |
| Fms | Receptor de CSF-1 (*) |
| Kit | Receptor de SCF (*) |
| Hst/Int-2 | FGF básico |
| Flg | Receptor de FGF (*) |
| Trk-A | Receptor de NGF(*) |
| Trk-B | Receptor de BDNF(*) |
| Trk-C | Receptor de NT-3 |
| Mas | Receptor de angiotensina (*) |
| Met | Receptor de HCGF (*) |
| Ras | Subunidad alfa de proteínas G |
| Jun | Factor de transcripción AP-1 (*) |
| Ets | Factor de transcripción PU.1 |
| Crk | Fosfolipasa C |

(*) indica identidad

Una variedad de oncoproteínas posee actividad de proteína quinasa específica para residuos de tirosina, y una actividad similar o idéntica está presente en los receptores para hormonas y factores de crecimiento activados por la unión del agente específico (Cuadro 6).

Las funciones de las oncoproteínas están relacionadas con su localización subcelular a nivel de la membrana celular, del citoplasma o del núcleo (Cuadro 7).

Proto-oncogenes, genes supresores de tumores y cáncer

Aunque los oncogenes virales son genes con claro potencial oncogénico en huéspedes susceptibles,

el papel de los proto-oncogenes en enfermedades neoplásicas, especialmente en los cánceres humanos comunes, no está aún totalmente definido. Alteraciones cuantitativas o cualitativas en la expresión de ciertos proto-oncogenes pueden, en principio, tener un papel en procesos oncogénicos que ocurren en condiciones naturales o experimentales. Cuatro tipos básicos de mecanismos pueden explicar una asociación entre proto-oncogenes y procesos carcinogénicos: (a) expresión aumentada de proto-oncogenes en sitios o momentos anormales; (b) amplificación de proto-oncogenes; (c) translocación o rearrreglo de proto-oncogenes y (d) mutación de proto-oncogenes.

Cuadro 6

Proteínas con actividad de quinasa específica para tirosina

| Oncoproteínas y otras | | Receptores de hormonas y factores de crecimiento |
|-----------------------|----------|--|
| tirosina | quinasas | |
| Src | Met | receptor de insulina |
| Yes | Pim | receptor de IGF-I |
| Fps | Fyn | receptor de EGF |
| Fes | Lck | receptor de PDGF |
| Fgr | Hck | receptor de FGF básico |
| Fms | Lyn | receptor de IL-1 |
| Ros | Tkl | receptor de CSF-1 |
| Erb-B | Arg | receptor de NGF |
| Abl | Trk | receptor de BDGF |
| Kit | | receptor de NT-3β |

Cuadro 7

Localización subcelular de oncoproteínas.

| Membrana | Citoplasma | Núcleo |
|----------|------------|--------|
| Ras | Raf | Fos |
| Src | Mos | Myc |
| Erb-B | Rel | Myb |
| Fms | | Ski |
| Yes | | Jun |
| Abl | | Erb-A |
| | | Ets-2 |

Mientras proto-oncogenes activados pueden ser capaces de inducir transformación neoplásica en una forma dominante, avances recientes indican la existencia de genes recesivos, llamados genes supresores de tumores o antioncogenes, cuya pérdida

o inactivación pueden conducir a la expresión de un fenotipo maligno. El gene RB1, relacionado con el origen del retinoblastoma, y el gene que codifica para el antígeno nuclear p53 son ejemplos importantes de genes supresores de tumores. Alteraciones de estos dos genes se han observado con relativa frecuencia en una variedad de tumores humanos, incluyendo tumores comunes. Un aspecto importante es que la pérdida o inactivación de genes supresores de tumores puede complementar la activación de proto-oncogenes para el origen y desarrollo de tumores de diverso tipo histológico. En todo caso, aunque estudios adicionales son necesarios para una mejor comprensión de los mecanismos moleculares asociados con procesos oncogénicos, hay poca duda de que alteraciones tanto de proto-oncogenes como de genes supresores de tumores pueden contribuir, en conjunción con alteraciones de otros genes, a los fenómenos que en formas de múltiples etapas sucesivas producen, de una manera clonal, la formación de una población de células definitivamente malignas a partir de una simple célula normal, lo cual puede conducir finalmente a la formación de un tumor capaz de matar al huésped.

Propiedades oncogénicas de factores de crecimiento

Una producción exagerada o mal regulada de ciertos factores de crecimiento puede resultar en la expresión reversible de un fenotipo transformado por parte de células susceptibles. En condiciones experimentales, factores de crecimiento tales como PDGF, FGF y TGF-beta son capaces de inducir un crecimiento libre de fijación en medio sólido de células cultivadas *in vitro*. El PDGF solo es capaz de inducir el crecimiento en agar blando de varias líneas celulares no transformadas y el TGF-beta puede inhibir la respuesta de estas células al PDGF. Complejas interacciones entre el PDGF, el EGF y el TGF-beta pueden ser importantes para la iniciación de un fenotipo transformado en células tratadas con carcinógenos químicos.

Una expresión constitutiva de IL-3 por células mieloides murinas microinyectadas con un plásmido vector que contiene el gene IL-3 murino ligado a un promotor activo, puede resultar en crecimiento autónomo asociado con la producción de IL-3 biológicamente activo. Las líneas celulares manipuladas que secretan IL-3 son capaces de inducir tumores después de su inoculación subcutánea a ratones singénicos.

El FGF básico es en sí mismo incapaz de transfor-

mar células cuando es expresado en altos niveles a partir de un plásmido recombinante, pero puede adquirir esta capacidad después de fusión con una secuencia de señal secretora, lo cual indica que requiere una interacción entre el factor de crecimiento y su receptor en la superficie celular.

Combinaciones de hormonas, factores de crecimiento y otros agentes moduladores del crecimiento celular son requeridas para la transformación de tipos particulares de células, por ejemplo, células de rata NRK. Sin embargo, la transformación de células NRK no parece requerir la acción de factores de crecimiento específicos, pero puede más bien reflejar una respuesta general de estas células a múltiples factores de crecimiento. Combinaciones de EGF, PDGF, TGF-beta y ácido retinoico se requieren para la inducción de transformación fenotípica de células NRK, pero ninguno de estos factores de crecimiento es por sí mismo absolutamente esencial para el proceso de transformación.

La sensibilidad de fibroblastos de rata para crecimiento celular independiente de fijación en medio sólido (transformación fenotípica) inducida por factores de crecimiento, tales como EGF, PDGF y TGFs, se correlacionan con su frecuencia de transformación inducida por retrovirus agudos, tales como el virus de sarcoma murino de Kirsten (K-MuSV) y el virus de leucemia murina de Abelson (A-MuLV). La existencia de tal correlación sugiere que mecanismos celulares comunes pueden operar en la transformación celular inducida por factores de crecimiento y oncoproteínas. Sin embargo los procesos moleculares asociados con estas alteraciones permanecen desconocidos.

CONCLUSION

Las hormonas y factores de crecimiento desempeñan un papel fundamental en la coordinación de las complejas funciones de organismos multicelulares, actuando como mensajeros que permiten la regulación del metabolismo y funciones celulares especializadas, así como también de los procesos relacionados con el control de la proliferación y diferenciación celular. Los productos proteicos de proto-oncogenes (oncoproteínas) desempeñan papeles variados en los mecanismos intracelulares de señalamiento, dependiendo en parte de su localización en la membrana celular, el citoplasma o el núcleo. Algunas oncoproteínas son componentes de factores de crecimiento o pueden ser idénticas o

similares a receptores para hormonas o factores de crecimiento. En todo caso los mecanismos de acción de hormonas y factores de crecimiento a nivel celular incluyen casi siempre, de una manera esencial, cambios en oncoproteínas específicas. Interacciones complejas entre los agentes extracelulares representados por hormonas y factores de crecimiento y agentes intracelulares representados por productos génicos específicos, incluyendo oncoproteínas, son esenciales para el funcionamiento armónico del organismo y para una respuesta adecuada de éste, frente a condiciones ambientales variables. Un desequilibrio entre estos diversos tipos de factores exógenos y endógenos puede conducir, en ciertos casos y de una manera transitoria, a la expresión de un fenotipo celular transformado. Una fijación hereditaria de este fenotipo se requiere, sin embargo, para llegar a la formación de un tumor y para su progresión hacia enfermedad diseminada (cáncer metastásico). Los procesos tumorigénicos están asociados con la presencia de alteraciones génicas específicas que incluyen la activación de proto-oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumor.

CONCLUSION

Hormones and growth factors are extracellular messengers that play an essential role in the coordination of the complex functions of multicellular organisms. They are involved in the regulation of metabolic processes and specialized cellular functions as well as in the processes associated with the control of cell proliferation and differentiation. The protein products of proto-oncogenes (oncoproteins) have varied roles in the intracellular signalling mechanisms, which partially depend on their localization at the level of the cell membrane, the cyto-

plasm, or the nucleus. Some oncoproteins are components of growth factors or can be similar or identical to the cellular receptors for hormones and growth factors. In any case, the mechanisms of action of hormones and growth factors at the cellular level frequently include, as an essential component, changes in specific oncoproteins. Complex interactions between the extracellular agents represented by hormones and growth factors and the intracellular agents represented by specific gene products, including oncoproteins, are of essential importance for the harmonic functioning of the organism and for appropriate responses to variable environmental conditions. Disturbances in the equilibrium between the different types of exogenous and endogenous factors may lead, in certain cases and in a transient manner, to the expression of a transformed phenotype. The hereditary fixation of this phenotype is required, however, for the formation of a tumor and for its progression towards disseminated disease (metastatic cancer). Tumorigenic processes are associated with the presence of specific genetic alterations that include the activation of proto-oncogenes and the inactivation of tumor suppressor genes.

BIBLIOGRAFIA

1. Pimentel E. Hormones, growth factors and oncogenes. Boca Raton, FL: CRC Press, 1987.
2. Weinberg R. (ED). Oncogenes and the molecular origins of cancer. Cold Spring Harbor: Laboratory Press, 1989.
3. Pimentel E. Oncogenes. Second ed., volumes I and II. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989.
4. Pimentel E. Colony-stimulating factors. Ann Clin Lab Sci 1990; 20:36-55.