

Factores de crecimiento importantes herramientas para la reparación ósea

Growth factors, important tool for bone repairing

JP. CARRILLO MATEOS

Todo ser vivo lleva en su clave genética los elementos necesarios para intentar reparar la integridad anatómica, bien por que haya sufrido un proceso traumático o degenerativo. En las últimas décadas se han intentado, y en parte conseguido, conocer los diferentes tipos de células que se involucran en los fenómenos de reconstrucción o regeneración de la zona lesionada. El número de células que se imbrican en el proceso y el orden de su aparición ya es conocido casi por completo, pero aún quedan muchos problemas por resolver en relación con la actuación de los factores del crecimiento en las fases de reparación de los procesos lesivos que puedan afectar a los elementos óseos.

Ante un problema tanto quirúrgico como traumático aparece, en primer lugar un proceso catabólico de inflamación, tendente a desbridar la zona lesionada y en lo posible eliminar las células destruidas, cuerpos extraños o contaminantes, cuya función se encomienda básicamente a los macrófagos, polimorfonucleares neutrófilos, quienes atraen a los residuos de la lesión y se concentran en la herida junto con los productos de procedencia plasmática, a esta fase en líneas generales se le llama "Fase del sustrato". En ella se produce una breve vasoconstricción (1). A continuación de la cual aparece la "Fase reparadora o anabólica", que se ca-

racteriza por la vasodilatación mediada por histaminas, prostaglandinas y los componentes C3 y C5 de la cascada del complemento. Se define el complemento como un sistema funcional de unas treinta proteínas del suero sanguíneo que interaccionan entre sí de un modo regulado, formando una cascada enzimática que permite una amplificación de la respuesta humoral, y que constituye un importantísimo mecanismo efector del sistema inmune, facilitando la eliminación del antígeno y generando una respuesta inflamatoria, sus componentes según su orden de actuación se designan con la letra C, y el número correspondiente.

Esta fase va a persistir durante todo el proceso inflamatorio. La vasodilatación alrededor de la zona lesionada facilita la migración de células del sistema inmune como las plaquetas, neutrófilos, mastocitos y linfocitos, junto con la aparición de elementos fibroblásticos, angiogénesis y producción de colágeno y sustancia fundamental, con la que aparece el tejido de granulación. (2).

Los monocitos se diferencian de los macrófagos, una vez que llegan al tejido dañado (3). Los principales factores de la iniciación del proceso de reparación son las linfoquinas, componentes de la cascada del complemento y los péptidos liberados por

Correspondencia:
Juan Pablo Carrillo Mateo
C/ Castillo, nº 4-3ºD
39002 Santander

los monocitos y polimorfonucleares (4), que son de vital importancia para que se inicie la fase del proceso reparador.

En una segunda etapa el proceso referido inicia la llamada fase proliferativa. La fibroplastia y el proceso de angiogénesis son los principales activadores de dicha fase, iniciándose una migración de fibroblastos a la zona problema, cuyo objetivo es la reparación del tejido conectivo (5), dicha activación está mediada por los procesos químicos liberados por los macrófagos durante la fase inflamatoria. A la vez se produce una activación de los fibroblastos, y se estimula el proceso de crecimiento de los capilares que se dirigen hacia el foco reparador y se encargan de aportar los nutrientes y el oxígeno, así como de remover los desperdicios metabólicos y reparadores (6,7)

La parte final de la fase proliferativa es la formación del tejido granuloso. Los fibroblastos se activan diferenciándose y produciendo la sustancia base de ese tejido, así como el colágeno. Estas células producen inicialmente colágeno de tipo III, el cual pasará posteriormente a colágeno de tipo I cuando el proceso reparador alcanza la madurez (8). Muchas citoquinas están involucradas en esta etapa, incluyendo todas las necesarias para la formación del colágeno, elemento fundamental en la fase de reconstrucción de cualquier tejido. Los fibroblastos también producen fibronectina y proteoglicanos que son componentes esenciales de la sustancia base (1). Hemos de señalar que todos los pasos que facilitan este evento, así como su control aún no son conocidos en su integridad. La etapa final de este proceso reparador está comprendida en la fase de maduración celular. La cicatrización de la herida sea cual fuere su localización y el tejido que se trate, es un sistema dinámico y son varios los factores que lo condicionan, incluido el estrés físico (6)

En los últimos años destacan de una manera importante los llamados factores del crecimiento celular (Growth factors, o GFs) en el aparato locomotor (9). Los factores de crecimiento son proteínas que se unen a los receptores localizados en la su-

perficie celular, y esta unión factor/receptor tiene como primera consecuencia la activación de la producción celular, así como su diferenciación.

Muchos factores de crecimiento son bastante versátiles. Estimulando la división celular en numerosos tipos de células, mientras que otros son específicos de una variedad determinada en particular. Estas moléculas regulan el crecimiento, diferenciación y metabolismo de la células a las que se les atribuye un papel relevante en todo el desarrollo tisular de los diferentes problemas que se pueden plantear en la masa ósea. En los últimos años se ha conocido la estructura, producción y acción biológica de un importante y único grupo de factores del crecimiento, las citoquinas (10). Estas moléculas son proteínas producidas y segregadas por distintos tipos de células (principalmente leucocitos), y actúan de mediadores en las respuestas inflamatorias e inmunológicas del organismo, pudiéndose decir que son las responsables de orquestar la comunicación entre las células del sistema inmune. Las citoquinas segregadas por los linfocitos se les denomina linfoquinas, mientras que aquellas segregadas por los monocitos y macrófagos se les denomina monoquinas. Muchas de las linfoquinas son también conocidas como interleuquinas (ILs), que no son producidas o segregadas por los leucocitos, pero que son capaces de afectar la función de las reacciones de estas células. Concretamente las interleuquinas son factores de crecimiento que tienen su misión dirigida a las células de origen hematopoyético. Al estar el proceso inflamatorio directamente conectado con el proceso reparador o regenerativo, las citoquinas juegan un papel importantísimo en este evento.

Es conocido de todos que los factores de crecimiento (peptidos) pueden actuar de forma autocrina, paracrina o endocrina sobre las células diana.

En los últimos años se ha demostrado que un gran número de factores de crecimiento regulan la proliferación y diferenciación del hueso y el cartílago, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Actualmente los GPs obtenidos en el laboratorio por métodos de "protein recombinatios" (proteínas recombinantes), o los extraídos por centrifugados del plasma autólogo, son un aspecto novedoso, y se utilizan especialmente en odontología (11,12), lesiones musculares, tendinosas y focos de fractura. En realidad el conocimiento y mecanismos íntimos de su acción aún no han sido esclarecidos, en síntesis se dispara un poco a boleo a ver que pasa. Pero tendrán un inmenso valor en el campo de la medicina, el día "posiblemente próximo", en que se conozcan los mecanismos científicos que regulan los procesos reparativos en los seres vivos, (el Prof. Watson mantiene la teoría de que los seres vivos "son pura bioquímica"). Al parecer los mecanismos reparativos son muy similares en todos los tejidos.

El hueso contiene varios factores de crecimiento, incluyendo las proteínas morfogenéticas (BMPs), factores fibroblásticos (FGFs); factores insulínicos (IGFs), factores plaquetarios (PDGF) y los transforming growth factor (TGF-beta)

La fibra colágena. Uno de los rasgos más característicos del sistema cicatricial, tanto de una herida, como de una fractura es la presencia progresiva de fibras colágenas, normalmente aparecen en la primera semana del proceso reparativo. Generalmente se orientan en el sentido de las fuerzas de tracción, y el esqueleto representan un 40%, son claves en el proceso de reparación ósea. Estos elementos esenciales en la reconstrucción del hueso se consiguen merced al ARN soluble de la zona lesionada, donde aportan los polipéptidos específicos para la configuración del ARN mensajero, interviniendo según los estudios de Biología Molecular hasta más de treinta genes distintos, amén de otros elementos como las integrinas, fibronectinas y glucosaminoglicanos.

Proteínas Morfogenéticas (BMPs). Estas se refieren a una actividad derivada del hueso, que induce a la formación de cartíla-

go y hueso vivo. Esta gran familia (13) ha despertado gran interés en el mundo de la osteogénesis al observarse que su implante en matriz desmineralizada subcutánea o intramuscularmente, propiciaba la formación de hueso. Son proteínas de bajo peso molecular y se responsabilizan de la formación endocondral del hueso, posiblemente estimulando las células progenitoras locales de la línea osteoblástica, a la vez que estimulan la síntesis de colágeno. Se conocen alrededor de veinticuatro pertenecientes a la superfamilia de los TGF-beta (14). Los mecanismos de acción de ésta proteínas siguen siendo investigados gracias a la posibilidad de obtener formas recombinantes, se conoce su mecanismo de acción tanto "in vitro como in vivo". Estas proteínas tiene una función activa, aún no claramente especificada, en particular las BMP-2; BMP-4; BMP-7; y BMP-12, son factores que estimulan el crecimiento óseo más efectivos de las hasta ahora conocidos, específicamente en defectos óseos, su eficacia que está íntimamente relaciona con "el carrier" que las transporta al foco problemático (15).

Recientemente estudios llevados a cabo (16) demuestran que la acción de estas proteínas también intervienen en la formación del cartílago.

El factor fibroblástico (FGF o Fibroblast Growth Factor). Se trata de un péptido que existe en dos formas distintas, una ácida y otra básica, teniendo entre ellas un 55% de homología (17). Estos factores no son proteínas secretadas al medio, pues carecen de secuencia líder, con lo cual sólo se liberan extra-celularmente cuando la membrana celular se reorganiza. Hasta el momento se han identificado cuatro FGFs distintos denominados FGF-1, FGF-2, etc, que se encuentran ampliamente expresados en los tejidos en desarrollo.

La regulación de la formación y secreción de estos péptidos no ha sido hasta ahora descifrada, aunque sus efectos biológicos han sido ampliamente demostrados. Estos factores juegan un papel muy importante en el desarrollo del esqueleto así como en la

osteogenia postnatal, estimulan la angiogénesis en el proceso regenerativo y son potentes mitógenos de los condrocitos y células del endotelio. Las señales intracelulares que protagonizan estos péptidos son: controlan la formación ósea regulando a los genes involucrados en la expresión de células progenitoras, la diferenciación de los osteoblastos y la apoptosis (18).

Durante la remodelación del hueso, los FGFs son sintetizados por los osteoblastos y almacenados en la matriz ósea. Estudios recientes han demostrado que estos péptidos estimulan la proliferación de las células mesenquimales en el desarrollo de las extremidades, desencadenando el crecimiento de las mismas (19).

Factores insulínicos (IGFs). En los últimos años la investigación de los factores insulínicos en el tema que tratamos, ha empezado a desenmarañar la función de los

factores del crecimiento citados y su familia de proteínas en la formación y mantenimiento del tejido óseo en los adultos. Fue hace casi medio siglo cuando se esbozó el papel de la función de los factores citados (antes conocidos como hormonas del crecimiento), y ha llevado a los investigadores a la conclusión de que intervienen en el crecimiento longitudinal del hueso, así como en su consolidación (20).

De todos los factores del crecimiento conocidos hasta ahora los IGFs, al parecer son los que más influencia tienen en la fisiología ósea, regulando el crecimiento del hueso y su desarrollo, su remodelación y reparación. Estas proteínas tienen influencia en el crecimiento de los condrocitos y cuando se almacenan en la matriz ósea, juegan un importante papel en la remodelación del hueso. Los IGFs circulan por el organismo unidos a sus correspondientes "carrier" y receptores, formando un entramado complejo biológico que actualmente es centro de numerosas investigaciones. Han sido descritos dos grupos de factores insulínicos, los IGF-I y los IGF-II. Los osteoblastos son las células que los sintetizan, produciendo las células humanas más factores IGF-II, que las del tipo-I (21).

La IGF-I es un péptido estrechamente relacionado con la insulina. La acción de esta proteína, está ligada con las respuestas celulares de la hormona del crecimiento (Growth hormone) (GH), de tal manera que estimulan respuestas celulares adicionales, siendo las relacionadas con el crecimiento las más notorias, aunque se conoce una de la IGF-1 independiente de la hormona del crecimiento, las cuales están implicadas en el crecimiento anormal del hueso.

La IGF-II, está expresada principalmente en tejidos neonatales y embrionarios, por lo que se le considera un factor muy activo en el desarrollo fetal, así como en el crecimiento anormal de personas jóvenes, y es prácticamente nula en el adulto, los últimos trabajos lo relacionan no sólo con la remodelación ósea, sino en la propia formación del mismo. (22,23).

Transforming Growth Factor (TGFs).

Tiene diversos efectos en el crecimiento y diferenciación de las células normales, así como en las neoplásicas y es bien sabido que las proteínas más importantes en el tejido óseo son aquellas que pertenecen a la familia de TGF-beta. Más de cien proteínas pertenecen a esta familia incluyendo algunas de la familia morfogenética (24), y factores de la regulación del crecimiento óseo. Estas proteínas tienen en común por lo menos una secuencia de aminoácidos. Son producidas por una gran variedad de células, siendo la matriz ósea una de las fuentes más importantes de este factor, y sus efectos en la formación del hueso pueden ser tanto positivos como negativos (25). Estudios llevados a cabo recientemente han demostrado que los TGF-beta podrían tener un considerable papel en la remodelación del hueso, ocupando una importancia considerable en la osificación, con efectos en la proliferación y diferenciación de las células osteoblásticas *in vitro* (26). Estos efectos encontrados en las células óseas, desencadenaron en su momento la hipótesis de que los TGFs-beta podrían tener un papel destacado en el acoplamiento de las etapas de la formación y remodelación ósea. Estudios *in vivo* realizados por Erlbacher y su grupo, confir-

maron esta hipótesis, sugiriendo que TGF-beta es un regulador fisiológico de la diferenciación osteoblástica, y actúa de componente central en el acoplamiento de la formación del hueso y su reabsorción durante la remodelación del mismo.(27).

Maeda y su grupo, publicaron recientemente un estudio en los cuales investigaron la acción conjunta de la BMP y TGF-beta en células mesenquimales osteoblásticas, y observaron que la comunicación entre las señales que desencadenan juegan un papel importante en la regulación y diferenciación osteoblástica, y los inhibidores de TGF-beta pueden llegar a ser muy importantes para el tratamiento de varias enfermedades óseas al acelerar la osteogénesis producida por la BMP. (25).

Factores plaquetarios (PDGF).- Son unos polipéptidos encontrados en diversos tejidos, incluyendo el hueso, donde en un principio se postuló que podría actuar como regulador autólogo de las remodelaciones óseas (28). Esta proteína ha sido aislada inicialmente en las plaquetas humanas, y está compuesta por dos cadenas de polipéptidos distintos A y B. La combinación de estos polipéptidos forman las cadenas homodiméricas (AA o BB), o heterodiméricas (AB) de PDGF.

La función de PDGF en el desarrollo y crecimiento óseo es aún incierta. Aunque la información que se posee indica que podría estar involucrados tanto en la respuesta inflamatoria, como en la reparadora (29). Estas proteínas han sido encontradas en extractos de la matriz ósea (30), sin embargo su síntesis por osteoblastos y condrocitos aún no ha sido comprobada. Estudios llevados a cabo por Wroblewsky y Edwal en 1991, demostraron que la PDGF tiene una actividad mitogénica en los osteoblastos, fibroblastos y células periostales, aunque es posible que estos efectos estén mediados por IGF-I (es conocido que PDGF aumenta la producción de IGF-I en las células mesenquimales) (31). Trabajos llevados a cabo por Feilshifter (32) y su grupo en tejidos de ratas, mostraron que PDGF tiene capacidad para estimular la for-

mación del hueso in vitro. Investigaciones posteriores compararon la acción de la PDGF y BMP-2, en la osteogénesis, tras su implante en mandíbulas de ratas dañadas. Los resultados mostraron que ambas acciones asociadas estimulan la formación y migración de células mesenquimales indiferenciadas al foco de lesión, siendo la BMP-2 la que consigue la citada diferenciación en osteoblastos y condroblastos.

Se pudo de esta manera concluir que ambas proteínas están involucradas en la fase reparadora, aunque con distintos efectos reguladores.

En definitiva podemos pensar que el futuro ya ha llegado, que es fundamental el conocimiento de estos factores, la revolución del ADN va a cambiar por completo la actuación médica, y como dice el Prof. Collings, "el médico que no tome el tren de la medicina celular quedará aparcado en el apeadero de la brujería".

Consideraciones personales.- Estimo que cuanto más se profundiza en el conocimiento de estos factores, en mi opinión, más respetuosos hemos de ser con el capital óseo. Cuando la madre naturaleza lo ha colocado allí es por que se necesita, por tanto aquellos conceptos que se tenían de tratar de sustituir el elemento óseo por metal, creo que son absolutamente negativos. Por ejemplo yo siempre he sido partidario de las prótesis planas en las caderas, no es bueno vaciar el trocánter mayor o fresar la zona metafisio/diafisaria para colocar una prótesis a presión, bien ajustada, por que se ataca a la circulación endostal que supone el 75% de la vascularización ósea, el periostio solo vasculariza el 25% de la misma, y además las células primigénicas se encuentran en número mucho mayor en la zona esponjosa que en la cortical, posteriormente el ADN mensajero lee la zona donde se reciben las cargas y las refuerza, apareciendo entonces las llamadas osteopatías adaptativas, con engrasamiento ostensible sobre las nuevas zonas de carga, y además la osteo/integración en el poro de los brotes óseos en las prótesis, es mucho más rápida y efectiva.

Bibliografía

1. **Hardy MA.** The biology of scar formation. *Physical Therapy* 1989; 69: 1014-24.
2. **Lorena D y cols.** Normal Scarring: importance of myofibroblasts. *Wound Repair Regen* 2002; 10:86-92.
3. **Forrest L.** Current concepts in soft connective tissue wound healing. *Br J Surg* 1983; 70:133-40.
4. **Egozi EI y cols.** Mast cells modulate the inflammatory but not the proliferative response in healing wounds. *Wound Repair Regen* 2003; 11:46-54.
5. **Vanable J.** Integumentary potentials and wound healing. *Electric Fields in vertebrate Repair*. New York: Alan Liss inc 1989; p. 171-224.
6. **Rosenberg and de la Torre J.** Wound healing . Wound healing, growth factor-Review. *News Physiology Science* 2003;16:208-13.
7. **Thomas RD.** Specific nutritional factor in wound healing. *Adv Wound Care* 1997; 4:40-3
8. **Walter JB and Israel MS.** General Pathology. Churchill Livingstone 1987.
9. **Jonsson K y cols.** Tissue oxygenation, anemia, and perfusión in relation to wound healing in surgical patients. *Ann Surg* 1991; 214:605-13.
10. **Abbas AK y cols.** Cellular and molecular Immunology. Fourth Edition. Editorial WB Sanders Company 2000.
11. **Greene RM y Pisano MM.** Perspectives on growth factors and orofacial development. *Curr Pharm Des* 2004; 10:2701-17
12. **Garcia-Molina JA y cols.** The role of fibroblast growth factor (FGF) and type beta transforming growth factor (TGF-beta 1-beta 2-beta 3) during rat craniofacial development. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol* 2003; 45:66-78.
13. **Urist MR.** Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150:893-9.
14. **Kang Q y cols.** Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther* 2004; 11:1312-20.
15. **Schilephake H.** Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31:469-84.
16. **Kitamura A. y cols.** Tooth eruption into the newly generated bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Cleft Palate Craniofac J* 2002; 39:449-56.
17. **Giménez Gallego y cols.** Brain-derived acidic fibroblast growth factor: complete amino acid sequence and homologies. *Science* 1985; 230:1385-8.
18. **Marie PJ.** Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene* 2003; 316:23-32.
19. **Suzuki HR y cols.** Localization of Hstl transcripts to the apical ectodermal ridge in the mouse embryo. *DevBiol* 1992; 150:219-22.
20. **Mohán S y cols.** Insulin-like growth factor regulates peak bone mineral density in mice by both growth hormone-dependent and -independent mechanisms. *Endocrinology*. 2003; 144:929-36.
21. **Canalis E, McCarthy T y Centrella M.** Isolation and characterization of insulin-like growth factor I (somatomedin-C) from cultures of fetal rat calvariae. *Endocrinology* 1988; 122:22-7.
22. **Ishibe y cols.** Stimulation of bone formation in vivo by insulin-like growth factor-II in rats. *Calcif Tissue Int* 1998; 63:36-8.
23. **Conover CA y cols.** Subcutaneous administration of insulin-like growth factor (IGF)-II/IGF binding protein-2 complex stimulates bone formation and prevents loss of bone mineral density in a rat model of disuse osteoporosis. *Growth Horm IGF Res* 2002; 12:178-83.
24. **Ducy P and Karsenty G.** The family of bone morphogenetic proteins. *Kidney Int* 2000; 57:2207-14.
25. **Maeda S y cols.** Endogenous TGF-beta signaling suppresses maturation of osteoblastic mesenchymal cells. *Embo J* 2004; 23:552-63.
26. **Bonewald LF y Mundy GR.** Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling. *Clin Orthop Relat Res* 1990; 250:261-76.
27. **Erlebacher A y cols.** Osteoblastic responses to TGF-beta during bone remodeling. *Mol Biol Cell* 1998; 9:1903-18.
28. **Canalis E y cols.** Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol* 1989; 140:530-7.
29. **Canalis E. y cols.** Role of platelet derived growth factor in bone cell function. *Growth Regul* 1992; 2:151-5.
30. **Betsholtz C y cols.** cDNA sequence and chromosomal localization of human platelet-derived growth factor A-chain and its expression in tumour cell lines. *Nature* 1986; 320:695-9.
31. **Mohán S and Baylink DJ.** Bone growth factors. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 263:30-48.
32. **Pfeilschifter J y cols.** Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor, and transforming growth factor beta. *Endocrinology* 1990; 127:69-75.