

DESDE PROMETEO HASTA LA PROTEOMICA, UNA BREVE HISTORIA DE LAS IDEAS SOBRE EL CRECIMIENTO TISULAR

Claudio G. Barbeito

Cátedras de Histología y Embriología y Patología General Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Buenos Aires. Argentina

Cátedra de Antropología Biológica I. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Buenos Aires. Argentina. CONICET

PALABRAS CLAVE chalonas; factores de crecimiento; hipertrofia; hiperplasia; acreción

RESUMEN Durante muchos siglos, la regulación del crecimiento de los órganos y los tejidos se relacionó con su función y con la temperatura, esta última se asociaba con la llegada de sangre al órgano. Con el surgimiento de la biología experimental y la endocrinología, en la segunda mitad del siglo XIX, comenzaron a realizarse experimentos para explicar el crecimiento de los tejidos. Se estableció por entonces el efecto estimulante de las hormonas. En la primera mitad del siglo XX, surgieron distintos modelos que proponían la existencia de estimulantes e inhibidores del crecimiento, tanto de acción local como general.

KEY WORDS chalones; growth factors; hypertrophy; hyperplasia; accretion

ABSTRACT For many centuries, regulation of organ and tissue growth was thought to be related to function and temperature, the latter was associated with the arrival of blood to the organ. With the beginning of experimental biology and endocrinology, in the second half of the nineteenth century, the first experiments to explain tissue growth were carried out. By that time, the stimulant effect of hormones was established. In the first half of the twentieth century, different models that stated the existence of growth stimulants and inhibitors with local and general

action arose. Since 1962, the concept of chalone was developed to refer to growth inhibitors specific of tissue but not of species. Twenty years later, the term was forgotten but it has been retaken with a new sense recently. With the discovery of growth factors, it was demonstrated that regulatory substances have complex and varied actions. The current model of growth regulation includes substances with a wide range of effects and action mechanisms that are integrated and responsive to the environment. *Rev Arg Antrop Biol* 12(1):03-14, 2010.

action arose. Since 1962, the concept of chalone was developed to refer to growth inhibitors specific of tissue but not of species. Twenty years later, the term was forgotten but it has been retaken with a new sense recently. With the discovery of growth factors, it was demonstrated that regulatory substances have complex and varied actions. The current model of growth regulation includes substances with a wide range of effects and action mechanisms that are integrated and responsive to the environment. *Rev Arg Antrop Biol* 12(1):03-14, 2010.

El crecimiento es uno de los temas de mayor interés para la Antropología Biológica. En general, esta disciplina analiza el proceso a nivel macroscópico o en ocasiones, microscópico. Con el avance del conocimiento surgido durante las últimas décadas, es imposible comprender plenamente el proceso de crecimiento y su regulación si no se conocen sus bases moleculares. El presente artículo de revisión tiene como objetivo presentar las principales hipótesis que se han generado sobre el control del crecimiento de los tejidos animales y resumir el estado actual del conocimiento al respecto.

Aunque no se hace énfasis en el crecimiento del tejido óseo, frecuente objeto de estudio de la Antropología Biológica, muchos de los

conceptos que se exponen, también pueden aplicarse al principal componente de los huesos. El interés de este trabajo es plantear los aspectos de la regulación del crecimiento en individuos normales, por lo que solo serán muy ocasionales los comentarios sobre los tumores, pese a que muchos de los conocimientos sobre el crecimiento tisular surgen de la oncología. También se centra la revisión en el crecimiento de los tejidos de los mamíferos, ya que son los conocimientos de aplicación más directa en el ser humano.

Correspondencia a: Claudio G. Barbeito. Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 60 y 118. 1900 La Plata. Buenos Aires. Argentina. E-mail: barbeito@fcv.unlp.edu.ar

Recibido 13 Agosto 2010; aceptado 15 Octubre 2010

PRIMERAS IDEAS

Prometeo, considerado por la mitología griega como el padre de la humanidad, perdió el afecto de Zeus cuando robó el fuego del carro del sol, propiedad del padre de los dioses, para entregarlo a los hombres. A modo de castigo, Zeus ordenó encadenar a Prometeo, a un pilar en las montañas Caucásicas. Allí, según la extraordinaria versión de Robert Graves (1985) de los mitos griegos, “un ávido buitre le iba arrancando trozos de hígado durante todo el día causándole un dolor que no tenía fin porque cada noche el hígado volvía a crecer hasta estar nuevamente entero”. Esta referencia es, probablemente, el primer relato sobre el crecimiento de los órganos que registra la cultura occidental. Más allá del origen mitológico de la historia, hay dos hechos curiosos vistos desde la biología actual; hoy se sabe que el hígado es un órgano con una enorme capacidad regenerativa y que la actividad proliferativa del hígado que está regenerando es máxima durante la etapa de reposo (Barbeito et al., 2002).

Pese a este antecedente, las ideas sobre el crecimiento de los órganos no ocuparon tanto a los pensadores griegos como otros grandes aspectos de la biología, por ejemplo la concepción o la generación de nuevos individuos. Entre los filósofos presocráticos, las referencias más importantes sobre el tema las hizo Empédocles quien consideraba que el crecimiento era consecuencia del calor y de la interacción de fuerzas opuestas (Empédocles, 1985). Aristóteles, que admiraba a Empédocles, de quien tomó el modelo de los 4 elementos para explicar a la materia, mantuvo la idea de que el calor es fundamental para que ocurra crecimiento. Pero, Aristóteles agregó el concepto de que la llegada de sangre es indispensable para el crecimiento de los órganos. Estas ideas no son independientes, ya que es la sangre la encargada de transportar el calor a los órganos. Para la filosofía aristotélica hay una continuidad entre el crecimiento y la generación de nuevos individuos. Los llamados por Aristóteles, movimientos de la sangre intervienen tanto en

la reproducción con herencia como en la asimilación de nutrientes. Además, este filósofo describió los efectos de la castración sobre el crecimiento del animal joven, lo que demuestra que su visión sobre el tema no era en absoluto simplista. En cuanto al mecanismo íntimo del crecimiento, no es extraño que un vitalista como Aristóteles considerara que el motor del crecimiento de un organismo vivo estuviera en el interior del propio ser vivo (Lennox, 1999).

LA REVISIÓN DE LOS CLÁSICOS Y EL SURGIMIENTO DE LA BIOLOGÍA COMO CIENCIA. SIGLOS XVIII Y XIX

Durante cientos de años las ideas aristotélicas se mantuvieron como base para explicar la regulación del crecimiento. Recién fue el médico inglés John Hunter (1728-1793), quien incorporó al crecimiento entre los grandes problemas de la biología. Hunter estudió el crecimiento en general, pero especialmente tomó en cuenta lo que ocurría en los dientes y los huesos (Thompson, 1932; Jacobo et al., 2006). En cuanto al crecimiento de los órganos restantes, él consideró que estaba relacionado casi exclusivamente con la función, idea que persistirá hasta el surgimiento de la endocrinología a principios del siglo XX.

En el siglo XIX, no solo se estableció el término biología sino que también surgieron las teorías que iniciaron la madurez de esta ciencia, como la genética mendeliana, la teoría de la evolución y la teoría celular. Con respecto a esta última, la formación de nuevas células, aspecto ligado al crecimiento, fue uno de los últimos postulados que se incorporaron. Si bien la primera teoría celular reconocida, surgió a partir de los trabajos de Matías Schleiden -1838- y Theodor Schwann -1839-, estos autores consideraban que las células se forman originalmente mediante un proceso de condensación de sustancias alrededor del nucléolo primero y del núcleo después (ver Albarracín Teulon, 1983). Schleiden y Schwann creían que solo posteriormente, las células podrían formarse por división de otras preexistentes. Recién en 1852, Robert Remak y Rudolf Vir-

CRECIMIENTO TISULAR

chow establecieron que las células siempre se originan de otras preexistentes (Albarracín Teulon, 1983). A partir de ese momento, la célula fue considerada no solo la unidad de la vida, sino también el elemento esencial para que ocurra el crecimiento de los tejidos.

La teoría celular representó para la biología lo que la teoría atómica para la química, con ellas los aspectos fundamentales de estas ciencias pudieron explicarse a partir de la discontinuidad de la materia. Con este conocimiento elemental, empezaron a comprenderse los procesos básicos que ocurren en los seres vivos y es así como en la segunda mitad del siglo XIX surgieron conocimientos fundamentales para interpretar las bases del crecimiento de los órganos. Apareció por entonces la idea de que hay dos caminos para que el órgano crezca: o aumenta la cantidad de sus células (hiperplasia) o aumenta el tamaño de ellas (hipertrofia) estos mecanismos podrán ser independientes o actuar en conjunto (Virchow, 1878). Este concepto sobre los mecanismos básicos que pueden determinar el crecimiento tisular se mantiene hoy, pero a lo largo del siglo XX se agregó al aumento de la sustancia intercelular (acreción) como una de las fuentes de crecimiento (Wolpert et al., 2010).

También se estableció en esos años que existe una reducción del potencial proliferativo de las células durante el desarrollo. Además se determinó que, por lo general, hay una oposición en las poblaciones celulares entre su capacidad para dividirse y para diferenciarse. Dentro de este marco, Bizozero en 1894 clasificó a las poblaciones celulares según su potencial reproductivo, lo que demostraba que no todos los tejidos crecen con la misma intensidad. De esta manera el mencionado autor se adelantó en más de 60 años a los trabajos clásicos de Messier y Leblond sobre la capacidad de las distintas poblaciones celulares para responder frente a las lesiones (Goss, 1967).

En la segunda mitad del siglo XIX y tras haber adoptado los preceptos de Claude Bernard (publicado en 1944), toda la biología se hizo experimental y ese cambio generó el surgimiento de una nueva forma de enfocar los

problemas sobre la naturaleza de la vida. En ese marco, la bioquímica y la fisiología experimental fueron dos de las ramas de la biología que se desarrollaron en la segunda mitad del siglo XIX. De ellas surgió a finales de ese siglo la endocrinología. Por entonces, se tomó en cuenta la importancia de las hormonas como estimulantes del crecimiento (Rostand, 1966; Ledesma Mateos, 2000).

SIGLO XX. MODELOS EN PUGNA

A principios de siglo XX se siguió destacando la importancia fundamental de la función como mecanismo esencial en la regulación del crecimiento de los tejidos que forman a los órganos. En un estudio retrospectivo, Goss (1972) rescató una frase enunciada por T.H. Morgan en 1901 “La actividad de un órgano es la causa de su crecimiento”. El mismo autor menciona que treinta años después, Boycott afirmaba que “La hipertrofia y la atrofia son el resultado del uso y desuso”, así creía que los órganos están formados por unidades funcionales que se van poniendo en juego según los requerimientos fisiológicos.

Los trabajos sobre el crecimiento tisular comenzaron a ser muy abundantes a partir de 1930. Distintos experimentos apoyaron la existencia de inhibidores y estimulantes del crecimiento, muchos de ellos específicos de órganos. A partir de estos estudios comenzaron a surgir, promediando el siglo XX, modelos generales para explicar la regulación del crecimiento de los órganos.

El zoólogo Paul Weiss realizó un aporte teórico muy interesante con su artículo titulado “The problem of specificity in growth and development” (Weiss, 1947). Mas allá de los numerosos conceptos expuestos por Weiss que se desactualizaron desde entonces, este trabajo tiene un planteo absolutamente vigente al comparar a las poblaciones celulares con las de individuos y genera el concepto de “Ecología Molecular”. Dentro de ese marco, el desarrollo de un organismo es el resultado de la interacción de tres tipos de eventos: crecimiento, diferenciación y localización;

destacando la importancia de la superficie celular en ellos. Como veremos en secciones posteriores de este artículo, las ideas de Weiss coinciden con la propuesta básica de la biología del desarrollo actual. Con respecto al crecimiento, este artículo se adelantó unos años a la idea de inhibición por contacto que luego desarrollara Michael Abercrombie. Pero probablemente, el principal aporte de Weiss fue la elaboración del modelo de templados y anti-templados para explicar la regulación del crecimiento. Según este modelo, los tejidos poseen dos tipos de moléculas regulatorias del crecimiento: los templados que son estimulantes de la proliferación y se ubican en la membrana celular y los antitemplados que son inhibidores solubles producidos por las mismas células. Los antitemplados inhiben a los templados, de esta manera limitan el crecimiento tisular. Cuando se pierde parte de la masa de un órgano disminuye la cantidad de templados y por lo tanto los antitemplados quedan libres y el órgano crece. Rose consideró en 1957 que estos mecanismos ya aparecen en la vida prenatal. Weiss y Kavanu reforzaron esta idea en nuevos trabajos y se generó entonces el denominado modelo cibernético del crecimiento tisular (revisado en Goss, 1972). Evidentemente, el modelo de los templados presentaba una falencia, ya que ante la pérdida de parte de la masa del órgano también descendería la cantidad de templados.

Otra idea que surgió por entonces, evidentemente influenciada por la explosión de la teoría sintética de la evolución, es la posibilidad de que el crecimiento responda a un criterio de selección natural según el cual cada órgano crece mientras el aumento de tamaño sea eficiente (Warburton, 1955). De esa manera se establecerían en las poblaciones de organismos los alelos génicos que favorecieran el crecimiento de los órganos hasta un punto óptimo para hacer a los individuos más aptos para sobrevivir.

En 1957, Michel Abercrombie propuso un modelo de control del crecimiento tisular basado en estimulantes de la proliferación celular. Según esta hipótesis, la actividad mitótica

normal es baja por la ausencia de estos estimulantes, pero hay tres momentos en los que se produce un incremento de la actividad proliferativa basada en el aumento de la concentración de ellos. El primer caso ocurre cuando se extirpa parte de un órgano, entonces disminuye algún producto producido por este y se induce la liberación de algún estimulante sistémico; hoy se sabe que un mecanismo semejante ocurre para disparar la regeneración de órganos como el hígado o el riñón (Fausto, 2001). En otros casos, el incremento de la proliferación obedece a un estímulo hormonal, tal como ocurre en las vías genitales en cierto momento del ciclo sexual. Por último existiría un crecimiento reparativo generado por la liberación de una "hormona de la cicatrización" por parte de las células dañadas en una herida (Abercrombie, 1957). Otros investigadores como Malmgreen y Mills (1961), sostenían también la importancia de las sustancias estimulantes de la proliferación presentes en los tejidos, como mecanismo de regulación del crecimiento posnatal. Sin embargo, Abercrombie no limita el control de la proliferación celular a estos estimulantes y a él se atribuye el concepto de inhibición por contacto para explicar el comportamiento de las células tumorales. En condiciones normales, las células inhiben su proliferación al estar unidas a las vecinas, este proceso es la inhibición por contacto. Las células tumorales pierden este tipo de freno y siguen proliferando, por lo que en cultivos celulares forman capas múltiples (revisado en Abercrombie 1970). Hoy diversos investigadores han encontrado la base molecular de este proceso y como veremos más adelante, este mecanismo se ha asociado con la relación entre crecimiento y envejecimiento.

Tras analizar estos modelos opuestos, algunos autores como Stich (1960) consideraron que tanto los inhibidores como los estimulantes son fundamentales en el control del crecimiento y que el equilibrio se rompe cuando ocurren neoplasias.

En un excelente libro, que reúne buena parte de las ideas sobre el tema que existían por entonces, Goss (1964) considera que la re-

CRECIMIENTO TISULAR

gulación del crecimiento tiene como objetivo responder a la demanda fisiológica o al tamaño de los órganos y que la acción de estimulantes e inhibidores del crecimiento en estos procesos no es excluyente. Estas ideas integradoras se acercan al pensamiento actual sobre el tema. Sin embargo, algunos experimentos parecían indicar que los inhibidores eran los responsables principales de la regulación del crecimiento tisular, la comunidad científica estaba preparada para aceptar un paradigma basado en este tipo de mecanismos, nació entonces el modelo de las Chalonas.

CHALONAS: EL SURGIMIENTO DE UN PARADIGMA

En 1962 William S. Bullough publicó una revisión muy interesante que resume las ideas que hasta entonces se tenían sobre el control de la actividad mitótica en los tejidos de mamíferos. Este autor destaca que en condiciones normales la nutrición o la presencia de oxígeno no son importantes para el control de la proliferación celular. Además, señala que si bien ciertas hormonas influyen en el crecimiento tisular actuando como estimulantes, el principal control es inhibitorio. En ese control negativo estarían involucradas algunas hormonas como la adrenalina y los glucocorticoides que actuarían en asociación con los inhibidores específicos de tejidos a los que, en el último párrafo de su revisión, denominó chalonas (Bullough, 1962).

El término chalona proviene del griego (chalao: ir más despacio, disminuir). Su primera mención se halla en el Nuevo Testamento. Según el texto bíblico, los marineros del barco en el que San Pablo era prisionero emplearon una sustancia con ese nombre para aminorar la velocidad de la nave, atrapada en una tormenta. La primera aplicación del término en biología data de 1913, cuando Sir Schafer propuso, en el marco del XVII Congreso Internacional de Medicina, el término para designar a sustancias inhibitorias, de acción opuesta a las hormonas por entonces consideradas siempre de naturaleza estimulante. Tres años más tarde el mismo Schafer utiliza la palabra en su texto

de endocrinología de 1916. A fines de la década de 1950 el término se aplicó a sustancias inhibitorias de las funciones digestivas (Houck, 1976). En 1962, en el trabajo citado previamente, William S. Bullough lo aplicó por primera vez a una sustancia de función semejante a los antitemplados de Weiss (Iversen, 1976). Dos años más tarde el mismo Bullough con su colaborador Lawrence publicó el primer trabajo en que se utiliza ya desde el título este término para denominar a ciertos inhibidores del crecimiento tisular órgano-específicos (Bullough y Lawrence, 1964), al año siguiente este autor establece las pautas generales del paradigma de las chalonas (Bullough, 1965).

El trabajo de Bullough y Lawrence de 1964 es arquetípico dentro de la investigación relacionada con las chalonas. Estos autores realizaron un macerado de epidermis y encontraron que poseía un efecto inhibitorio sobre la proliferación de los epitelios estratificados de epidermis, glándulas sebáceas, cornea y esófago, pero no modificaba la actividad mitótica en el recto y los folículos pilosos. El resultado se mantuvo cuando se utilizaron para los experimentos distintas cepas de ratón y aún en el caso de que los ensayos se realizaran sobre otras especies como la rata, el cobayo y el conejo. Además, los autores encontraron un efecto dosis dependiente y que se incrementaba por la acción sinérgica de la adrenalina.

Inmediatamente otros grupos se sumaron al de Bullough y Lawrence, quizás el más importante fuera el erigido por Iversen en Oslo. Ambos grupos publicaron un trabajo de revisión sobre la chalona epidérmica en Nature en 1967 (Bullough et al., 1967). Esa sola publicación bastaría para demostrar la importancia que por entonces había tomado esa sustancia aún hipotética. Pero la chalona epidérmica no fue la única descrita, cada población celular parecía tener su chalona. Así se encontraron chalonas producidas por hepatocitos, células testiculares, células del cristalino, linfocitos, granulocitos, fibroblastos y endometrio, entre otros tipos de células (Volm et al., 1969; Houk et al., 1973; Iversen, 1976; Okulov et al., 1979).

En 1973, una revista muy prestigiosa, el *Journal of the National Cancer Institute*, publicó un número especial dedicado a las ponencias de un congreso internacional dedicado a las chalonas. En el prefacio de la publicación Houck et al. (1973) consideraban a las chalonas las sustancias más importantes en el control del crecimiento tisular y postulaban su potencial uso clínico.

Entre los años 1970 y 1984 se registró el mayor uso del término en distintos trabajos científicos. Es por entonces que aparecen revisiones bibliográficas y se realizan congresos relacionados con el tema. Así, por ejemplo, Bullough en una revisión de 1973 comentó, acerca de la endocrinología “esta ciencia debe tener ahora tres subdivisiones: las chalonas que son producidas en cada tejido para mantener la masa y el funcionamiento del propio tejido; las hormonas ...y las feromonas ...”.

Las características propuestas para las chalonas fueron enumeradas en otra revisión, escrita por Iversen en 1976. Este autor destaca que las mismas son sustancias que se producen y se encuentran en los tejidos sobre los que actúan, pueden circular por difusión regional o por vía sanguínea, son de naturaleza hidrosoluble, son específicas para un mismo tejido pero no de especie, su acción es reversible y no dañan las células, actúan en las etapas G1 o G2 del ciclo celular, su vida media es corta y presentan antagonistas, denominados anti-chalonas. Este autor además especuló sobre el posible uso farmacológico de las chalonas en el tratamiento del cáncer.

Al promediar la década de 1970 las chalonas podían considerarse como parte de la ciencia oficial, aunque algunos autores seguían negando su existencia. En 1978, la publicación *Citation Classics* hizo referencia a un trabajo de revisión de Bullough (1965) que había sido citado 249 veces en el período 1965 y 1976. Por entonces, este investigador recordó el nerviosismo de los editores de la revista *Cancer Research* cuando publicaron su revisión en el año 1965 y agregó “ha llevado más de 10 años que el concepto de chalona sea aceptado por la mayoría”. Las chalonas habían ganado in-

cluso los libros de texto, algunos de los tratados más importantes de las ciencias biomédicas como la “Patología Humana” de Brunson (1971), el “Tratado de Histología” de Ham (1974), la “Patología estructural y funcional” de Robbins (1975) y la “Patología General Veterinaria” de Thompson (1978), entre otros textos, incorporaron el concepto para explicar el crecimiento de los tejidos (ver Barbeito y González, 2005).

Pero a fines de la década de 1970 e inicios de la de 1980, el modelo de las chalonas comenzó a mostrar que no podía explicar ciertos aspectos del control del crecimiento y que se requerían hipótesis ad-hoc para poder relacionar los resultados de los experimentos con el modelo. Se acumularon entonces esas dificultades que el modelo epistemológico de Tomas Kuhn denominó anomalías y que pueden llevar a la caída del paradigma (Kuhn, 1971). Un problema muy importante era que las chalonas seguían a fines de los 70s sin poder purificarse. Iversen (1981) defendía la existencia de las chalonas, a partir de la historia de la endocrinología, este autor señalaba que “el término hormona se utilizó antes de purificar alguna de ellas. De la misma manera el concepto de interferón se empleó 20 años antes de aislar las sustancias de este grupo”.

En muchos aspectos si realizamos una visión histórica, la teoría de las chalonas para explicar el crecimiento tisular, se ajusta al concepto de paradigma de Kuhn mejor que muchas otras teorías que se desarrollaron para explicar los grandes temas de la biología. El modelo surgió compitiendo con otros. Incluyó un lenguaje y una metodología experimental diferente a modelos anteriores. Fue incorporado por la ciencia oficial, lo que se demostró cuando alcanzó los libros de texto. Luego empezó a presentar anomalías que al hacerse muy numerosas, llevaron al desplazamiento del modelo. Y por último, solo un grupo pequeño y aislado de investigadores siguió empleando el término.

Sin embargo como en tantos otros casos, la historia de la ciencia parece no ser tan estricta con las teorías como plantea Kuhn. Pese a la

CRECIMIENTO TISULAR

caída del modelo, los trabajos sobre las chalonas fueron conceptual y metodológicamente incorporados a la ciencia actual.

LAS NUEVAS IDEAS Y EL DESCUBRIMIENTO DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO

Simultáneamente al surgimiento y apogeo del modelo de las chalonas, se profundizaron aspectos fundamentales para comprender el crecimiento, especialmente aquellos relacionados con la capacidad reproductiva de las distintas poblaciones celulares. A partir de los trabajos de Leblond y Walker (1956), Trasher (1968) y otros autores, se dividieron a las poblaciones celulares en lábiles (que se renuevan permanentemente), estables o expansibles (que se reproducen para reparar pérdidas) y permanentes (que no se reproducen). Estos estudios apoyaron la existencia de células especiales a las que se denominó stem cells o células troncales, caracterizadas por su capacidad para autopetpetuarse y a la vez originar distintos tipos de células diferenciadas. Estas células son las que permiten que se repongan las células diferenciadas que se pierden en grandes cantidades en tejidos como el sanguíneo o algunos epitelios formados por poblaciones celulares lábiles (Potten y Morris, 1988). Los conocimientos surgidos por entonces fueron el punto de partida de las aplicaciones terapéuticas que hoy se postulan para estas células.

Durante la década de 1970 no todos los autores se limitaron a utilizar el modelo de las chalonas para explicar el crecimiento tisular. Por ejemplo, Goss (1972) consideraba que las hipótesis para explicar el crecimiento podían dividirse según distintos criterios: la función de las sustancias intervinientes (inhibidores o estimuladores) o la fuente de producción de los reguladores (local o general). Pero además, Goss consideraba que para analizar el crecimiento tisular existían dos grandes ideas: o el tamaño de las partes está determinado genéticamente o está adaptado exactamente a la función.

En coincidencia con lo propuesto por Goss,

otros grupos de investigación comenzaron a encontrar sustancias que modificaban el crecimiento y que no encajaban con el paradigma de las chalonas. Estas sustancias fueron denominadas factores de crecimiento. Los factores de crecimiento son péptidos que actúan sobre receptores de membrana iniciando una cascada de reacciones intracelulares que culmina con cambios en la proliferación, la diferenciación, el movimiento u otras actividades de las células. Estas sustancias poseen efectos pleiotrópicos y a veces estos son opuestos según cual sea la población celular considerada (revisado en Barbeito y Andrés Laube, 2005). Sin embargo, la mayoría de ellos son fundamentalmente estimulantes de la proliferación celular, excepto los miembros de la familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta) que son inhibidores de la proliferación de muchas poblaciones celulares (Massagué, 1990). Si bien el factor de crecimiento nervioso se conocía desde años atrás, esta sustancia era reconocida como necesaria para la supervivencia neuronal y sus efectos se consideraban como dependientes de las características particulares del sistema nervioso. El concepto de los factores de crecimiento como reguladores fundamentales de la proliferación celular y en consecuencia, del crecimiento de los tejidos surgió a fines de la década de los 70s y principios de los 80s (Stiles et al., 1979), mientras muchos investigadores comenzaban a cuestionar el modelo de las chalonas.

A partir de ese momento, en pocos años se aislaron numerosos factores de crecimiento y se identificaron sus receptores. Estas sustancias actúan fundamentalmente a nivel local aunque pueden viajar por sangre. Dentro de ellos se encuentran los factores de crecimiento semejante a insulina (IGFs) conocidos originalmente como somatomedinas y que median la mayoría de las acciones de la hormona del crecimiento (Jones y Clemmons, 1995). El caso del IGF-I es muy interesante porque, en respuesta a la hormona de crecimiento, el hígado secreta el factor que viaja por sangre y alcanza a los huesos y allí estimula proliferación en el cartílago de crecimiento. Pero en otros

tejidos, el factor es secretado en la zona y es un regulador local del crecimiento (Jones y Clemmons, 1995; Barbeito y Andrés Laube, 2005).

Pese a que parecían ser paradigmas opuestos, algunos autores tratan de asociar a las chalonas y a los factores de crecimiento (Parkinson y Balmain, 1990). Sin embargo, los factores de crecimiento parecían ganar la batalla y a finales de la década de 1980 y durante la de 1990 el término chalona se registró solo en trabajos publicados en revistas de poca difusión, de origen ruso y ucraniano, no escritos en inglés. Curiosamente el concepto de chalonas reapareció en la literatura científica a finales de la década de 1990 cuando McPherron y Lee aislaron el gen de la miostatina. Esta sustancia es un miembro de la familia del TGF-beta, pero su acción inhibitoria sobre el crecimiento parecía limitarse exclusivamente al músculo estriado, disminuyendo tanto el aumento del tamaño de las fibras como su proliferación (Lee y McPherron, 1999; Gamer et al., 2003). Los ratones que carecen de alelos funcionales del gen de la miostatina tienen un peso corporal un 25% mayor que los normales y ese incremento está representado básicamente por un aumento de la masa muscular. La actividad muscular regula la expresión del gen (Lee y McPherron, 2001), lo que explica molecularmente la clásica idea de la relación entre actividad y crecimiento. El gen de la miostatina está muy conservado en aves y mamíferos y se ha determinado que las razas de bovinos que poseen mutaciones en este gen, como ocurre con la *Belgian Blue*, presentan una hipertrofia de la masa muscular (Lee, 2007). También se encontraron mutaciones que inactivan al gen de la miostatina en hipertrofias musculares congénitas humanas (Schuelke et al., 2004). Sin embargo, algunos estudios de los últimos años demostraron que los efectos de la miostatina no están limitados al músculo esquelético y que esta sustancia interviene también en procesos relacionados con el mantenimiento de la estructura ósea (Elkasrawy y Harmrick, 2010), por lo que no encajaría exactamente el nombre de chalona. A partir del resurgimiento del término, ocurrió un hecho curioso: los miembros

del grupo de Oslo que aún continuaban trabajando, publicaron un artículo sobre una chalona, refiriéndose con ese nombre a un péptido mucho más pequeño que los miembros de la familia del TGF-beta de acción antimitótica específica. Los autores señalaban que durante años ellos no utilizaron el nombre chalona para referirse a estas sustancias y a otras semejantes por lo desacreditado del concepto en la comunidad científica (Elgjo y Reichelt, 2004).

EL ESTADO DEL CONOCIMIENTO HOY: LA COMPLEJIDAD DE UN PROCESO

El modelo actual para explicar el control del crecimiento tisular es muy complejo e involucra una gran diversidad de mecanismos de señalización que incluyen interacciones complejas entre genes, nutrición, hormonas y medio ambiente. Además de aspectos relacionados con otros procesos como la muerte celular y el envejecimiento. Hoy se considera que el crecimiento de un tejido es en buena medida, el resultado de un balance positivo entre proliferación y muerte celular. Si la primera predomina sobre la segunda el tejido crecerá. Sin embargo, no deben olvidarse los procesos de incremento de masa celular, por ejemplo la hipertrofia en el músculo estriado y el crecimiento por acreción con aumento de la sustancia intercelular, por ejemplo en los huesos (Wolpert et al., 2010).

Hoy se considera que existen mecanismos intrínsecos de control de la proliferación y la muerte celular muy complejos, que son regulados por señales que vienen desde otras células. Estas señales llegan a las células mediante diferentes vías: endocrina, nerviosa, paracrina, autocrina y por contacto celular o de la célula con la matriz. La naturaleza de las señales también es múltiple y dentro de estas sustancias se incluyen: hormonas, factores de crecimiento, neurotransmisores, ARN pequeños y probablemente chalonas. Además son muy variados los mecanismos de acción, pero en general implican vías complejas de señalización con muchos pasos intermedios. Es fundamental que el crecimiento de cada órgano

CRECIMIENTO TISULAR

este regulado por el propio órgano pero también por los restantes. Por ejemplo, cuando a un roedor de laboratorio se le extirpan lóbulos del hígado, algunas células del bazo y el riñón reconocen la pérdida de masa del hígado y producen HGF (factor de crecimiento hepatocítico), una sustancia que estimula la proliferación de diversas poblaciones celulares entre ellas los hepatocitos, células principales del hígado (Fausto, 2001).

Otro aspecto a tener en cuenta es la limitación de la proliferación celular originada por el acortamiento de las porciones terminales de los cromosomas: los telómeros. La longitud de los telómeros se reduce con cada división celular, hasta llegar a un tamaño incompatible con la reproducción, en ese momento se habla de senescencia reproductiva celular. Existe una enzima llamada telomerasa que permite la regeneración de los telómeros. Esta enzima es abundante en los organismos unicelulares. En los mamíferos es muy escasa en la mayoría de las células de los organismos de gran tamaño y vida media larga, como el humano, lo que protegería de la aparición de tumores (las células tumorales suelen poseer mucha telomerasa y por eso se hacen teóricamente inmortales). En cambio, en animales de pequeño tamaño y vida corta como el ratón, los niveles de telomerasa son altos. Estos son organismos que en estado salvaje suelen vivir muy poco, por lo que no es importante la protección contra trastornos relacionados con la edad. En cautiverio el 90% de estos animales muere de cáncer antes de los 4 años. Sin embargo, existen algunos roedores, que son muy pequeños viven muchos años y no desarrollan tumores. Curiosamente estos animales, como la rata-topo desnuda que vive hasta 28 años, tienen niveles altos de telomerasa. Hoy se sabe que la rata-topo desnuda ha desarrollado otros mecanismos de inhibición de la proliferación celular desmedida como es la exacerbación del mecanismo de inhibición por contacto (Seluanov et al., 2008, 2009; Gorbunova y Seluanov, 2009). Estos estudios son parte de líneas de investigación muy importantes que relacionan la longevidad con el crecimiento.

Además, recientemente se han involucrado las fuerzas y la tensión intracelular como mecanismo de regulación del crecimiento, retomando la antigua idea referente a la importancia de los factores físicos para el crecimiento. Estos trabajos plantean el concepto de mecanotransducción, según el cual los cambios en la tensión generan modificaciones íntimas en las células que llevan a cambios en la permeabilidad celular, diferencias en la estructura espacial de las proteínas y modificaciones de la expresión génica que actúan sobre el crecimiento (Ingher, 2006).

Como hemos visto previamente, durante mucho tiempo se consideró una dependencia del crecimiento con la función del órgano. Posteriormente, se intentó explicar el control del crecimiento de los tejidos exclusivamente a partir de la regulación interna, ya sea mediante sustancias inhibitoras o estimulantes. Actualmente nadie niega la existencia de reguladores endógenos, pero se sabe que además, se requiere de una regulación del crecimiento desde el medio externo. En el marco de la biología actual, los genes no son importantes por sí solos, es fundamental comprender los mecanismos por los cuales se regula su transcripción y en ocasiones el medio externo regula la expresión génica. Por ejemplo, la actividad física inhibe a la porción del gen de la miostatina necesario para que comience su transcripción. De esta manera este inhibidor del crecimiento muscular no se liberaría cuando los músculos están trabajando y como consecuencia de ello, el tejido muscular crecería. Se explica así, al menos en parte, el mecanismo molecular que lleva a que el tejido muscular estriado crezca como respuesta adaptativa al ejercicio físico.

El crecimiento de los tejidos también presenta variaciones temporales. Se sabe que la proliferación celular y en consecuencia el crecimiento de los órganos, varía a lo largo del día (variaciones circadianas marcadas) (García et al., 2001; Barbeito et al., 2003). Además, el fotoperíodo puede modificar tanto la variación corporal total como el crecimiento de los órganos reproductores (Gunduz, 2002).

En la integración de los procesos del cre-

cimiento con el medio ambiente también es muy importante el rol que cumplen las señales relacionadas con la insulina. Estas incluyen a los IGFs y a la insulina de los vertebrados, pero también a sustancias de la misma familia aisladas de nematodos e insectos que también regulan el crecimiento en estos animales. Las señales de insulina median la relación entre nivel nutricional y el crecimiento tisular, aunque el mecanismo mediante el cual lo hacen aun no está del todo claro (Nijhout, 2003).

Al analizar la evolución de las ideas sobre el crecimiento de los órganos pareciera que estamos frente a cambios de paradigmas según lo propuesto por Thomas Khun (1971). Según esta interpretación, el paradigma de las chalonas presentó numerosas anomalías, terminó desacreditándose y se reemplazó por el de los factores de crecimiento. Sin embargo, un análisis más profundo parece indicar que el modelo de los programas de investigación de Lakatos es más adecuado para explicar esta historia (Lakatos, 1983). Según este modelo, el programa de investigación mantiene un núcleo heurístico que se conserva mientras el mismo programa se va haciendo más complejo por incorporar nuevos elementos. La teoría se va enriqueciendo porque va generando nuevas respuestas e inclusive conceptos dejados de lado como el de las chalonas, que pueden retomarse. Hoy la comprensión de los mecanismos íntimos del crecimiento tisular no puede conseguirse a partir de modelo sencillo. Probablemente las ideas actuales se enriquezcan en los próximos años, mostrando otro aspecto más de la complejidad de nuestro organismo. Hace pocos años la comunidad científica creía ingenuamente que el conocimiento del genoma humano permitiría descifrar el secreto de la vida (Lewontin, 2001). Sin embargo, los genes son solamente la primera cadena de la serie de mensajes que permiten la construcción del organismo. En las últimas décadas la embriología se convirtió en una ciencia más compleja, la Biología del Desarrollo. Esta ciencia abarca la ontogenia no solo durante la etapa prenatal. Retomando en cierta medida lo planteado mucho antes por Weiss (1947) so-

bre el crecimiento, según el cual este proceso es uno de los aspectos básicos del desarrollo de un individuo junto a la diferenciación celular y la organización espacial de los tejidos (Gilbert, 2005; Wolpert et al., 2010). En este marco, se ha determinado que el crecimiento se hace mucho más manifiesto luego de haberse establecido los tejidos embrionarios. Así, el feto humano presenta un largo periodo de crecimiento prenatal, a diferencia de animales como los marsupiales que nacen poco después de la diferenciación tisular primaria (Wolpert et al., 2010). La expresión génica diferencial es la base de la morfogénesis de los organismos vivos, en ese marco la proteómica, es decir el conocimiento de las proteínas presentes en los distintos tipos celulares y en diferentes momentos (Gilbert, 2005), nos acercará más a descifrar los mecanismos complejos que regulan el crecimiento. Por ejemplo se ha encontrado que la expresión de algunos factores de crecimiento que aparecen solo durante la vida prenatal en casi todos los tetrápodos, en la salamandra se expresan en la vida posnatal lo que permite que en esta especie los miembros puedan regenerarse en los adultos (Muneoka et al., 2008).

La presente revisión pretende plantear la historia de los principales conceptos y modelos que se desarrollaron para explicar el mecanismo que regula el crecimiento de los tejidos y los órganos. Describir con detalle los conocimientos actuales sobre el tema requeriría de una revisión exclusiva. La importancia del tema está basada en numerosos aspectos, ya que el conocimiento sobre el crecimiento de los órganos no solo tiene interés en la biología teórica. Los conocimientos sobre los mecanismos íntimos de la regulación de este proceso, permitirán el desarrollo de aplicaciones fundamentales en el tratamiento y prevención de distintas formas de cáncer o la regeneración de órganos y miembros.

LITERATURA CITADA

- Abercrombie M. 1957. Localized formation of new tissue in an adult mammal. *Symp Soc Exp Biol* 11:235-253.

CRECIMIENTO TISULAR

- Abercrombie M. 1970. Contact inhibition in tissue culture. *In Vitro* 6:128-142
- Albarracín Teulon A. 1983. La teoría celular. Madrid: Alianza Universidad.
- Barbeito CG, Andrés Laube PF. 2005. Los factores de crecimiento. Aspectos básicos y potencialidades terapéuticas. *Anal Vet* 25:8-27.
- Barbeito CG; González NV. 2005. Las chalones como modelo para estudiar la relación entre los trabajos científicos y los libros de texto. La Plata: VII Congreso de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata y 4tas Jornadas de Educación. p 104-107.
- Barbeito CG, Flamini MA, Garcia MN, Andrés Laube PF, Andriani LB, Badrán AF. 2002. Development of compensatory hepatic hyperplasia in mice carrying the hepatocellular carcinoma ES12a. *J Clin Exp Cancer Res* 21:397-400.
- Barbeito CG, González NV, Badrán AF. 2003. Sex and age related temporal variations in intestinal epithelium proliferation in the suckling mouse. *Chronobiol Int* 20:37-47.
- Bernard C. 1944. Curso de medicina experimental. Córdoba: Editorial Assandri.
- Bullough WS. 1962. The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. *Biol Rev* 37:307-342.
- Bullough WS. 1965. Mitotic and functional homeostasis. A speculative review. *Cancer Res* 25:1683-1727.
- Bullough WS. 1973. The chalones: a review. En: Forscher BK, Houck JC, editores. *Chalones: concepts and current researchs*. National Cancer Institute Monograph. Maryland: DHEW Publication. p 5-14.
- Bullough WS, Laurence EB. 1964. Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone-adren-alin complex. *Exp Cell Res* 33:176-194
- Bullough WS, Laurence EB, Iversen OH, Elgjo K. 1967. The vertebrate epidermal chalone. *Nature* 214:578-579.
- Elgjo K, Reichelt KL. 2004. Chalones. From aqueous extracts to oligopeptides. *Cell Cycle* 3:1208-1211.
- Elkasrawy MN, Hamrick MW. 2010. Myostatin (GDF-8) as a key factor linking muscle mass and bone structure. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 10:56-63.
- Empédocles. 1985. Fragmentos de "La naturaleza". En: Heraclito, Parmenides y Empédocles. La sabiduría presocrática. Madrid: Sarpe. p 111-135.
- Fausto N. 2001. Liver regeneration. *J Hepatol* 32:19-31.
- Gamer LW, Nove J, Rosen V. 2003. Return of the Chalones. *Dev Cell* 4:143-151.
- García MN, Barbeito CG, Andriani LB, Badrán AF. 2001. Circadian rhythm of the DNA synthesis and the mitotic activity of tongue keratinocytes. *Cell Biol Int* 25:179-183.
- Gilbert SF. 2005. Biología del desarrollo. Buenos Aires: Panamericana.
- Gorbunova V, Seluanov A. 2009. Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: from mice to beavers. *Mech Ageing Dev* 130:3-9.
- Goss RJ. 1964. Adaptive growth. New York: Academic Press.
- Goss RJ. 1967. The strategy of growth. En: Teir H, Rytomaat T, editores. Control of cellular growth in adult organisms. London: Academic Press. p 3-27.
- Goss RJ. 1972. Regulation of organ and tissue growth. New York: Academic Press.
- Graves R. 1985. Los mitos griegos. Buenos Aires: Hyspamerica.
- Gunduz B. 2002. Effects of photoperiod and temperature on growth and reproductive organ mass in adult male mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Turk J Biol* 26:77-82.
- Houck JC. 1976. Introduction. En: Houck JC, editor. *Chalones*. Amsterdam: North-Holland publishing company. p 1-5
- Houck JC, Laurence EB, Hennings H, Callahan A. 1973. *Chalones: Concepts and Current Researches*. National Cancer Institute Monograph 38. Maryland: DEWH publications.
- Ingher DE. 2006. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *Faseb J* 20:811-827.
- Iversen O. 1976. The history of the chalones. En: Houck JC, editor. *Chalones*. Amsterdam: North-Holland Publishing company. p 35-69.
- Iversen OH. 1981. The Chalones. En: Baserger R, editor. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 57:491-550.
- Jacobo JA, Galindo JC, Fernández Vázquez JM. 2006. John Hunter. El primer investigador en ortopedia. *Acta Ortopédica Mexicana* 20:85-87.
- Jones J, Clemmons DR. 1995. Insuline-Like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Rev* 16:3-34
- Kühn TS. 1971. La estructura de las revoluciones científicas. México: Fondo de Cultura Económica.
- Lakatos I. 1983. La metodología de los programas de investigación científica. Madrid: Alianza Editorial.
- Leblond CP, Walker BE. 1956. Renewal of cell populations. *Physiol Rev* 36:255-276.
- Ledesma Mateos I. 2000. Historia de la Biología. México: AGT ediciones.
- Lee SJ. 2007. Sprinting without myostatin: a genetic determinant of athletic prowess. *Trends Genet* 23:475-477.
- Lee SJ, McPherron AC. 1999. Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr Op Gen Dev* 9:604-607.
- Lee S, McPherron A. 2001. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *PNAS* 98:9306-9311.
- Lennox JG. 1999. The place of mankind in Aristotle's zoology. *Philosophical Topics* 27:1-16.
- Lewontin R. 2001. El sueño del genoma humano y otras ilusiones. Buenos Aires: Paidós.
- Malmgren RA, Mills W. 1961. Studies of properties of the liver mitotic stimulant (LMS) in mouse tumor tissue. *J Nat Cancer Inst* 26:525-532.
- Massagué J. 1990. The transforming growth factor β family. *Annu Rev Cell Biol* 6:597-641
- Muneoka K; Manjong H; Gardiner DM. 2008. Regeneración de las extremidades. *Investigación y Ciencia* 381:24-31.
- Nijhout HF. 2003. The control of growth. *Development* 13:5863-5867.

C.G. BARBEITO

- Okulov VB, Ivanov MN, Anisimov VN. 1979. Regulation of mitotic activity in rat vaginal epithelium: relationships between the level of its inhibitor (G2-chalone) and estrogen. *Endokrinologie* 74:20-26.
- Parkinson K, Balmain A. 1990. Chalones revisited-a possible role for transforming growth factor beta in tumour promotion. *Carcinogenesis* 11:195-198
- Potten CS, Morris RJ. 1988. Epithelial stem cells in vivo. *J Cell Sci Suppl* 10:45-62.
- Rostand J. 1966. *Introducción a la historia de la biología*. Madrid: Península.
- Schuelke M, Wagner KD, Stoltz LE, Hubner C, Riebel T, Komer E, Braun T, Tobin JF, Lee SJ. 2004. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *Nw Eng J Med* 24:2682-2693.
- Seluanov A, Hine C, Bozzella M, Hall A, Sasahara TH, Ribeiro AA, Catania KC, Presgraves DC, Gorbunova V. 2008. Distinct tumor suppressor mechanisms evolve in rodent species that differ in size and lifespan. *Aging Cell* 7:813-823.
- Seluanov A, Hine C, Azpurua J, Feigenson M, Bozzella M, Mao Z, Catania KC, Gorbunova V. 2009. Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 17:106:19352-19357.
- Stich HF. 1960 Regulation of mitotic rate in mammalian organisms. *Ann NY Acad Sci* 90:603-609.
- Stiles CD, Capone GT, Scher CD, Antoniades HN, Van wyk JJ, Pledger WJ. 1979. Dual control of cell growth by somatomedins and platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1289-1293.
- Thompson WM. 1932. A review of the experiments of John Hunter and more recent investigators on localizing the areas of jaw growth. *The Angle Orthodontist* 2:244-251.
- Trasher JD. 1968. Analysis of renewing epithelial cell populations. *Meth Cell Physiol* 2:323-357.
- Virchow R. 1878. *Patología Celular*. Madrid: Moya y Plaza Editores.
- Volm M, Wayss K, Hinderer H. 1969. A new model of growth regulation. Cell specific inhibition of DNA-Synthesis in He-La cells by endometrium extract. *Die Naturwissenschaften* 11:566-567.
- Warbuton FE. 1955. Feedback in development and its evolutionary significance. *Am Nat* 89:129-140.
- Weiss P. 1947. The problem of specificity in growth and development. *Yale J Biol Med* 19:235-278.
- Wolpert L, Jessell T, Lawrence P, Meyerowitz E, Robertson E, Smith J. 2010. *Principios del Desarrollo*. Buenos Aires: Editorial Panamericana.