

## Conferencia de Clausura

---

### Regulación del crecimiento intrauterino

M. HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

*Departamento de Pediatría de la Universidad Autónoma. Hospital del Niño Jesús. Madrid.*

#### INTRODUCCION

Dentro del patrón de crecimiento humano, la etapa prenatal se caracteriza por ser un período durante el cual, además de un ritmo o velocidad de aumento de masa muy elevado, los procesos de remodelación morfológica y especialización funcional, adquieren especial importancia y exigen unos factores reguladores precisos y distintos de los que intervienen en el período postnatal. Por eso, para analizar con precisión las particularidades del crecimiento durante esta etapa, es preciso revisar brevemente los mecanismos de diferenciación y morfogénesis que constituyen el núcleo fundamental del crecimiento durante esta etapa y estudiar por separado el período embrionario, que se extiende a lo largo de las primeras 12 semanas de gestación y el período fetal que va del final de la semana 12 hasta el nacimiento.

#### PERIODO EMBRIONARIO

Durante este período tiene lugar un proceso de multiplicación celular extraordinariamente rápido que da lugar a un gran incremento del número del número de células. En la primera semana la hiperplasia celular no se acompaña de la aparición de estructuras diferenciadas. pero a lo largo de la segunda semana la masa celular se diferencia en dos capas: ectodermo y endodermo y en la tercera aparece una nueva capa: el mesodermo. A partir de este momento y hasta el final de la semana 12 tiene lugar la organogénesis.

#### Diferenciación y morfogénesis

La *diferenciación* constituye un problema crucial de la biología del desarrollo y consiste en la generación, a partir

de una célula pluripotente e indiferenciada, de grupos de células especializadas, que se agrupan posteriormente para constituir tejidos y órganos que se rigen por grupos independientes de factores reguladores.

Puesto que en la mitosis cada célula hija recibe los mismos genes de su progenitora, la diferenciación, que conducirá a que del primitivo óvulo fecundado se originen células tan distintas, estructural y funcionalmente, como una neurona y una célula epitelial, no puede explicarse por una diferencia en el contenido genético, sino por alguna forma de activación diferencial de dichos genes<sup>(1)</sup>.

Entre las hipótesis propuestas para explicarla, una de las que cuenta con mayor apoyo experimental es la que postula que existe una activación selectiva de zonas del ADN nuclear, bien en los genes reguladores o estructurales. Según los trabajos iniciales de Huang y Bonner<sup>(2)</sup>, confirmados posteriormente por otros autores<sup>(3,4)</sup>, el mecanismo de activación/inactivación del ADN estaría relacionado con la forma en que éste se encontrara dentro de la cromatina nuclear. Cuando se encuentra fuertemente unido a las histonas formando nucleosomas y empaquetado en estructuras aún más compactas, como los "solenoides" no es accesible a los factores de transcripción y a otras moléculas reguladoras responsables de su activación. Solamente los genes codificados en segmentos de ADN libre, que se ha liberado de su combinación con las histonas y otras moléculas que lo "enmascaran", podrían expresarse y ser transcritos<sup>(4)</sup>. Una de las características de estos segmentos es su sensibilidad a la acción de las nucleasas, concretamente a la ADNasa I, lo que ha sido utilizado para demostrar la existencia de zonas de la cromatina con capacidad para expresar un determinado gen<sup>(5)</sup>.

Las moléculas con capacidad para llevar a cabo esta activación son productos intracelulares o sustancias originadas fuera de la célula y transportadas al interior de ésta a través de la membrana celular. Actúan regulando la accesibilidad de los factores de transcripción a regiones específicas del ADN, y la unión de éstos al promotor de un determinado gen haría posible su expresión, es decir, la transcripción de la información al ARNm y su traducción posterior, de forma que en cada tejido cada célula sintetizará el producto apropiado en cada momento del desarrollo ontogénico<sup>(6)</sup>.

En los últimos años se han identificado un gran número de factores de transcripción y sus respectivos genes, entre ellos los genes *homeobox*, que son una familia de genes ampliamente distribuidos en todas las especies de metazoos, y que en el hombre se han identificado asociados en grupos en varios cromosomas: 2, 7, 12 y 17, o dispersos en distintas zonas del genoma<sup>(7)</sup>. Regulan la síntesis de factores de transcripción, como el PPAR gamma, la miogenina, el CBFA 1 o el SOX9, que regulan la diferenciación de una única célula mesenquimatosa pluripotencial común en adipocito, miocito, osteoblasto o condrocito<sup>(8,9)</sup> y sus mutaciones son responsables de diversas malformaciones fetales y algunos tumores<sup>(8)</sup>.

Además de la acción directa sobre el gen estructural, facilitando su expresión, estos factores pueden actuar sobre los genes reguladores, sobre el ARNm, sobre los ribosomas o sobre la molécula proteica final y lo más probable es que el proceso de síntesis enzimática, que constituye el primer paso de la diferenciación, sea regulado a través de varios de estos mecanismos, igual que sucede con la síntesis de proteínas en las células diferenciadas.

La activación diferencial y la expresión cronológicamente programada de diferentes genes permitirá a las células dirigir su propio metabolismo, sintetizar en cada momento aquellas moléculas que le son necesarias y adaptar su estructura progresivamente a la función que han de realizar: desarrollo del retículo endoplásmico en las células secretoras, mitocondrias más numerosas en las encargadas de realizar reacciones oxidativas, amplio desarrollo de los ribosomas en las que asumen funciones de síntesis proteica, etc<sup>(3)</sup>.

La *morfogénesis* es el proceso de remodelación morfológica que sigue a la diferenciación; a través de él se forman las hojas germinativas, se diferencian los órganos y, final-

mente, se configura la forma definitiva del organismo. Se inicia con cambios estructurales en las células, secundarios a su diferenciación bioquímica y especialización funcional, que van seguidos de migración y agrupamiento celular, mitogénesis y apoptosis o muerte celular programada.

Los tres mecanismos fundamentales de la morfogénesis se representan esquemáticamente en la figura 1 y son los siguientes:

- Síntesis y deposición de moléculas en la matriz extracelular.
- Producción de moléculas de reconocimiento celular.
- Expresión de mensajeros intercelulares, entre ellos los factores peptídicos de crecimiento.

Las moléculas de la matriz extracelular determinan la dirección de la migración de las células embrionarias. Las dos mejor conocidas son la fibronectina y la tenascina. La primera constituye un sustrato para el crecimiento, mientras que la tenascina interviene preferentemente en la orientación de la migración celular<sup>(10)</sup>.

El segundo tipo de moléculas que intervienen decisivamente en la morfogénesis, son aquellas especializadas en el reconocimiento de la posición de la célula en relación con las que la rodean. Aunque han sido identificadas varias moléculas con esta función, las mejor conocidas y más importantes son unas glicoproteínas calciodependientes denominadas genéricamente cadherinas. Todas ellas están constituidas por 723-748 aminoácidos, y forman parte de la membrana celular; la mayor parte de la molécula está situada externamente y una pequeña porción atraviesa la membrana y conecta con los haces de actina que forman parte del citoesqueleto<sup>(11)</sup>. Su función es interaccionar con otras moléculas de la misma naturaleza en las células de su misma estirpe o de otra. La mayor o menor expresión de estas moléculas facilita la agrupación de las células en los tejidos y la constitución de los órganos<sup>(10)</sup>.

El tercer tipo de factores que intervienen en la morfogénesis son los factores peptídicos. Éstos, además de las acciones mitogénicas o inhibitoras de la multiplicación celular, intervienen en el proceso de inducción y diferenciación celular modulados por la insulina, por el aporte de nutrientes y a través de su unión a las proteínas transportadoras, intervienen de manera decisiva en el crecimiento global del embrión y del feto y en el crecimiento y morfología de los distintos órganos<sup>(12)</sup>.

En resumen, el comportamiento de las células en las etapas iniciales del desarrollo embrionario depende de los constituyentes de la matriz extracelular, que guían su orientación y desplazamiento durante la organogénesis. Posteriormente, la multiplicación y diferenciación celular y la remodelación de los distintos órganos, depende de la secreción de un conjunto de factores estimulantes e inhibidores del crecimiento que lo potencian o bloquean, y son responsables de la forma y tamaño definitivo del embrión y del feto.

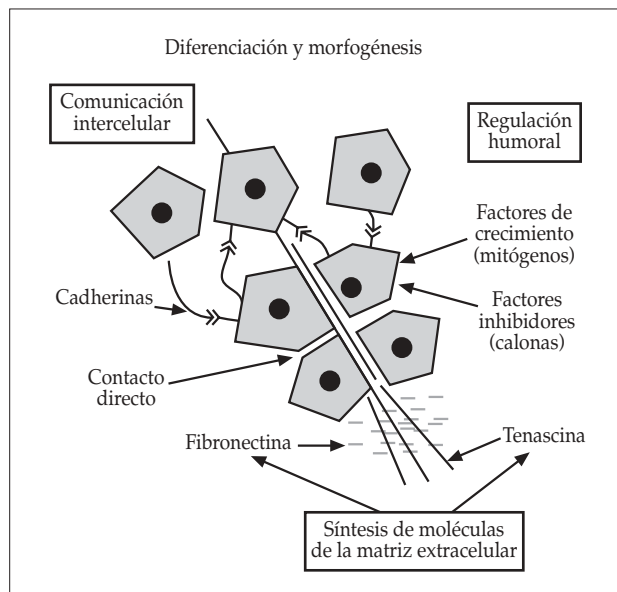
#### PERIODO FETAL

La morfología de la curva de crecimiento durante este período se caracteriza por un aumento progresivo de la velocidad de crecimiento en longitud, que alcanza su máximo a la 18 semana, mientras que el incremento máximo de peso tiene lugar más tardíamente, hacia la semana 34 (Fig. 2). Cerca del término, el crecimiento fetal se desacelera, debido a la limitación del espacio uterino y a la incapacidad de la placenta para atender las elevadas demandas energéticas y plásticas del feto a término. Esto produce una inflexión o decalaje en la curva, que se corrige tras el nacimiento al cesar las restricciones intrauterinas (Fig. 2). La regulación del crecimiento durante este período es casi exclusivamente autocrina y paracrina, ocupando un lugar destacado la transferencia de nutrientes a través de la placenta, que a su vez modulan la secreción de insulina. La acción conjunta de ambos (nutrientes e insulina) estimulan la síntesis de IGF I e IGF II y modulan su actividad regulando el equilibrio entre sus proteínas transportadoras y el número y afinidad de los receptores. Solamente en las últimas semanas de gestación el sistema endocrino va ocupando progresivamente el papel que, como sistema regulador tendrá en la vida extrauterina.

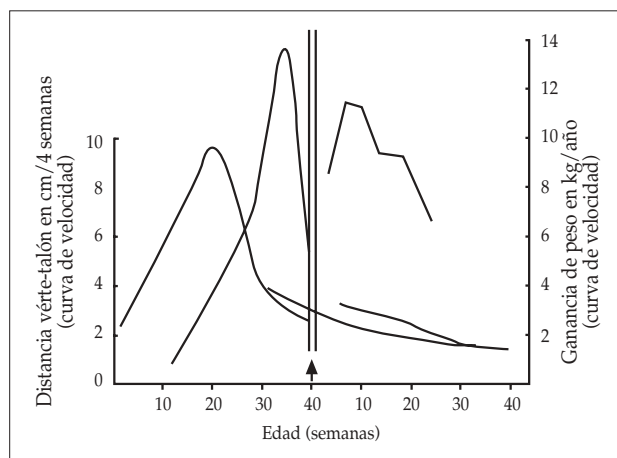
El análisis detallado de cada uno de los factores que regulan el crecimiento en este período desborda los objetivos de esta presentación, y por eso me voy a limitar a resumir la función y el mecanismo de acción de los más importantes.

#### Hormonas

Las hormonas más directamente implicadas en la regulación del crecimiento son: la hormona de crecimiento hipofisaria (GH), las hormonas tiroideas, el cortisol, los andrógenos suprarrenales, la testosterona, los estrógenos, los metabolitos activos de la vitamina D y la insulina<sup>(13)</sup>.



**Figura 1.** Factores que regulan la morfogénesis y los procesos de regeneración en los tejidos: contacto directo entre las células, secreción de moléculas al espacio extracelular y regulación de la multiplicación celular a través de factores estimulantes e inhibidores.



**Figura 2.** Curvas de velocidad de crecimiento (longitud, peso) durante el período intrauterino y las primeras 40 semanas de vida postnatal. Se evidencia en ambas la restricción del ritmo de crecimiento en las semanas previas al nacimiento. (Tomada de JM Tanner).

La *hormona de crecimiento hipofisaria*, forma, junto con las somatomedinas o factores de crecimiento similares a la insulina (IGF I e IGF II) y sus proteínas transportadoras, un sistema complejo capaz de adaptar en cada momento la velocidad de crecimiento a la situación metabólica y a las condiciones ambientales. En contra de lo que se aceptaba hasta hace unos años, hoy se ha demostrado que durante las últimas semanas de vida intrauterina va asumiendo parcialmente las funciones que tendrá después del nacimiento.

Además de efectos importantes sobre el metabolismo intermediario, actúa directamente sobre el cartílago de crecimiento facilitando la expresión del gen de IGF-I, que a su vez estimula la maduración y multiplicación de los condrocitos más diferenciados y la síntesis por éstos de la matriz extracelular.

Las *hormonas tiroideas*, sobre todo la T3, desempeñan un papel fundamental en la maduración del sistema nervioso central y sobre la síntesis y liberación de GH. Sobre el cartílago de crecimiento estimulan la síntesis de enzimas relacionadas con la mineralización, pero, a diferencia de la GH, no tienen ningún efecto sobre la proliferación celular.

Los *andrógenos*, tanto los suprarrenales, como los gonadales, ejercen una acción muy importante en el proceso de diferenciación y maduración sexual. En el crecimiento en longitud intervienen, a través de un mecanismo indirecto, incrementando la secreción de hormona de crecimiento hipofisaria y, directamente, estimulando la proliferación celular y la síntesis de la matriz extracelular en el cartílago.

Los *estrógenos* tienen también un mecanismo de acción doble; regulan el flujo plasmático uterino y estimulan la mineralización del cartílago, tal como sucede en la vida postnatal.

La *insulina* actúa sobre el metabolismo celular, facilitando la transferencia de nutrientes al interior de la célula, comportándose sobre el crecimiento más bien como un factor permisivo que como un factor regulador, aunque durante este período tiene un papel destacado como inductora de la síntesis de IGF I e IGF II en colaboración con el aporte de oxígeno, energía y nutrientes esenciales, y de su transferencia a través de la placenta.

Los *glucocorticoides*, a dosis fisiológicas, tienen una acción permisiva y sinérgica con otras hormonas y factores de crecimiento y a nivel periférico parece que estimulan la síntesis de colágeno y otras macromoléculas de la matriz extracelular.

La *parathormona* y los *metabolitos activos de la vitamina D* regulan la actividad de los osteoblastos y la mineralización, y a través de estos procesos el crecimiento y maduración óseos.

### Factores locales de crecimiento

La principal diferencia con las hormonas es que en vez de ser sintetizados exclusivamente por un tipo de células especializadas en un lugar alejado de aquel en el que van a actuar, son producidos por un gran número de tejidos y actúan localmente, sobre las propias células que los producen o sobre células próximas, mediante un mecanismo intracrina, autocrino o paracrino<sup>(14)</sup>.

La vía de acción común de todos estos factores es la interacción con receptores de la membrana celular; la unión con el receptor provoca modificaciones físicas en la propia membrana, que conllevan cambios en la velocidad de transporte de determinados iones ( $K^+$ ) y precursores metabólicos (glucosa, aminoácidos, nucleótidos), a los que siguen cambios bioquímicos en el interior de la célula. Según el tipo de receptor, estos cambios pueden provocar efectos catalíticos en el propio receptor, como en el caso de los que poseen actividad tirosinacuinasa, o afectan a la síntesis de adenilciclasa, a las proteínas-G, a la relación GMPc/AMPc, y a la concentración del calcio iónico o del fosfatidilinositol<sup>(16, 17)</sup>. Las modificaciones en la concentración intracelular de estas sustancias, que se comportan como segundos mensajeros, activan proteinacinasas citosólicas y estimulan la síntesis de algunas enzimas, como la ornitíndecarboxilasa, que son responsables, a su vez, de la síntesis de poliaminas (putrescina, espermina y espermidina) y de otras moléculas, lo que constituye la expresión bioquímica inicial del crecimiento o diferenciación celular.

Según el momento del ciclo celular en que actúan, se han clasificado estos factores en dos grupos: factores de competencia o iniciadores y factores de progresión<sup>(17)</sup>. Los primeros lo que hacen es inducir a la célula a pasar de la situación de reposo (G0) a la situación G1 haciéndola competente para responder al segundo tipo de factores (factores de progresión) que la hacen avanzar hacia la fase de síntesis de ADN (fase S) y completar el ciclo. Al primer grupo pertenecen el factor de crecimiento de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF). Entre los segundos se encuentra el factor de crecimiento epidérmico.

co (EGF) o su análogo, el factor transformador alfa (TGF- $\alpha$ ), que actúan precozmente en la fase G1, y las somatomedinas (IGF-I e IGF-II) que actúan en una etapa más tardía e intervienen en la síntesis de la enzima timidina cuinasa necesaria para la replicación del ADN<sup>(10)</sup>.

Junto a este grupo de factores cuya función es estimular la multiplicación y/o el crecimiento celular existe otro sistema contrapuesto, cuya finalidad es frenar el crecimiento de los órganos y del organismo en su conjunto cuando ha alcanzado el tamaño determinado genéticamente. Este sistema inhibitorio es peor conocido; se sabe que intervienen fenómenos físicos de densidad celular, posición y contacto entre las células, y fijación o anclaje a determinados sustratos<sup>(15)</sup>. Además, hay datos que sugieren la existencia de un mecanismo de *feedback* de naturaleza bioquímica, que consiste en la producción y liberación al medio de sustancias capaces de inhibir el crecimiento: las denominadas por Bullough calonas o chalonas<sup>(6,9)</sup>. A pesar de que estas aún no están tan bien caracterizadas como los factores estimulantes del crecimiento, en los últimos años se han descrito algunas moléculas con efectos inhibitorios de la proliferación celular, entre ellas uno de los factores que intervienen en la transformación celular (TGF- $\beta$ ), el factor de necrosis tumoral (TNF), la inhibina y algunas clases de interferón<sup>(1,10,16)</sup>. Todas ellas juegan un papel decisivo en la morfogénesis y en el mantenimiento del tamaño de algunos órganos, como el hígado o el riñón, en el curso de los procesos de regeneración o hipertrofia compensadora, así como en el desarrollo embrionario.

Algunos de estos factores, como los que forman parte del sistema TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3) tienen un carácter bifuncional, comportándose como inhibidores o estimulantes de la multiplicación celular, en función de la estirpe celular, nivel de desarrollo alcanzado por el tejido u órgano y la presencia de otros factores de crecimiento<sup>(20)</sup>. Esto demuestra que la respuesta de la célula en un momento determinado depende más de su situación metabólica y grado de diferenciación que de la naturaleza de la señal. Por eso, algunos factores, como los miembros de la familia TGF- $\beta$ , que son fundamentalmente inhibidores, pueden comportarse como mitógenos en las primeras semanas del desarrollo embrionario y como inhibidores del crecimiento celular o incluso responsables de la apoptosis o muerte celular programada en las últimas fases del desarrollo embrionario.

TABLA I. PRINCIPALES GRUPOS O FAMILIAS DE FACTORES DE CRECIMIENTO POLITÓPICOS

<b>I. Somatomedinas</b>
IGF-I
IGF-II
<b>Factores de crecimiento epidérmico</b>
EGF
TGF $\alpha$
Anfirregulina
<b>Factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF)</b>
FGF ácido
FGF básico
Oncogenes (v-int, v-hst)
<b>Factores derivados de las plaquetas</b>
Beta, beta (oncogene v-sis)
Alfa, beta
Alfa, alfa
<b>Factores transformadores <math>\beta</math></b>
TGF $\beta$ 1, $\beta$ 2 y $\beta$ 3
Inhibinas
Activinas
Hormona antimülleriana
Oncogenes (vg1)
Proteínas morfogénicas óseas

TABLA II. FACTORES DE CRECIMIENTO CON ACTIVIDAD LIMITADA A ALGUNOS TEJIDOS O CÉLULAS

<b>I. Somatomedinas</b>
Inhibinas
<b>Factores de crecimiento neural</b>
<b>Factores de crecimiento del sistema hematopoyético</b>
- Eritropoyetina
- Factores estimuladores de colonias (CSF)
• Granulocito-macrófago (CSF)
• Macrófago
• Interleucina 3
<b>Otras citoquinas</b>
- Interleucinas 1-9
- Factor de necrosis tumoral (TNF)
- Timopoyetina
<b>Hormonas gastrointestinales</b>
- Bombesina (hormona liberadora de gastrina)
- Enteroglucagón

Los principales grupos o familias de factores de crecimiento con actividad mitogénica o inhibitoria que actúan sobre un amplio grupo de células o tejidos de distinta estirpe se recogen en la tabla I, y en la tabla II los factores cuya

acción es más específica y va dirigida exclusivamente a un determinado tipo de células.

### Otros factores de crecimiento

#### *Leptina*

La leptina es una hormona peptídica sintetizada por los adipocitos y la placenta, uno de cuyos efectos mejor conocidos es la regulación del peso corporal actuando a través de receptores hipotalámicos sobre la ingesta y el gasto energético.

Se ha detectado en sangre fetal ya a las 18 semanas de gestación, coincidiendo con el comienzo de desarrollo del tejido adiposo, y sus niveles se van incrementando progresivamente, coincidiendo con el máximo desarrollo de aquél. En recién nacidos a término con retraso de crecimiento intrauterino los valores de leptina en cordón están disminuidos significativamente en relación con recién nacidos con crecimiento intrauterino normal. No obstante, la posible función de este péptido en el crecimiento humano no está definida, ya que los dos pacientes con déficit congénito de leptina no tenían retraso de crecimiento intrauterino<sup>(7,17)</sup>.

#### *Ghrelin*

El descubrimiento de este péptido abre nuevas perspectivas en el conocimiento del crecimiento fetal, ya que trabajos recientes muestran que las células productoras de ghrelin están presentes ya a las 10 semanas de gestación y elevación de los niveles plasmáticos en los neonatos con bajo peso para la edad gestacional<sup>(18,19)</sup>. Aunque estos son hallazgos preliminares sugieren que más que una actividad directa sobre el crecimiento como estimulador de la secreción de GH, podría ejercer un papel inductor de la adipogénesis y de regulación de la glucemia en las situaciones de retraso de crecimiento o malnutrición intrauterina<sup>(19)</sup>.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Robert DF. Genetics of growth. *Br Med Bull* 1981; 37: 239-246.
2. Huang R, Bonner J. Histone, a suppressor of chromosomal RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci US* 1962; 48: 1216-1224.
3. Goldspink E. Differentiation and growth in vertebrate tissues. Londres: Chapman and Hall; 1974.
4. Weisbrod S. Active chromatin (a review). *Nature* 1982; 297: 298-295.
5. Elgin SCR. Dnase I hypersensitive sites of chromatin. *Cell* 1981; 27: 413-415.
6. McLean N, Hall BK. *Cell Commitment and Differentiation*. Londres: Cambridge University Press; 1987.
7. Carrascosa A, Ballabriga A. Crecimiento intrauterino. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F, Eds. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*, 2ª Edición. Barcelona: Doyma; 2000. p. 131-153.
8. Mark M, Rijli FM, Chambon P. Homeobox genes in embryogenesis and pathogenesis. *Pediatr Res* 1997; 42: 421-429.
9. Zhao Qi, Eberspeacher H, Lefebvre V, Crombrugge B. Parallel expression of Sox9 and Co12a1 in cells undergoing chondrogenesis. *Dev Dyn* 1997; 209: 377-386.
10. Hill PJ. Cell multiplication and differentiation. *Acta Paediatr Scand* 1989; (suppl 349): 13-20.
11. Takeichi M. The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. *Development* 1988; 102: 639-655.
12. López A, Rosenfeld RG. Factores de crecimiento semejantes a la insulina. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F, eds. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. 2ª Edición. Barcelona: Doyma; 2000. p. 83-112.
13. Carrascosa A, Audi L. Regulación del crecimiento. Hormonas y factores locales de crecimiento. *An Esp Pediatr* 1993; 39(S 55): 158-162.
14. Fant M, Weisoly D. Insulin and insulin-like growth factors in human development: Implications for the perinatal period. *Seminars in Perinatology* 2001; 6: 426-435.
15. Stoker MGP. The multiplication of cells. En: Baltrop D, ed. *Pediatrics and Growth*. *Postgr Med J* 1978; (suppl 1): 5-14.
16. Heldin CH, Westermark B. Growth factors: Mechanism of action and relation to oncogenes. *Cell* 1984; 37: 9-20.
17. Soriano-Guillén L, Pozo J, Argente J. Regulación hormonal del retraso de crecimiento intrauterino. *An Pediatr* 2003; 58 (supl 4): 455-459.
18. Rondi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Solí M, Locatelli V, et al. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol* 2002; 117: 511-519.
19. Soriano-Guillén L, Barrios V, Chowen JA, Sánchez I, Vila S, Quero J, et al. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr* 2004; 144(1): 30-35.