

Obtención y aplicación de PRFC en los procesos osteoarticulares y músculoesqueléticos

Estudio clínico con factores de crecimiento (I)

Cuando nos planteamos introducir un tema, como es el de los factores de crecimiento, del que todo el mundo habla bien o mal es muy complejo, porque se plantean toda una serie de incógnitas que hay que resolver. En estas ocasiones cuando un procedimiento se utiliza y funciona clínicamente hay que remontarse al principio, y hay que desmenuzar y valorar punto por punto y paso por paso, para que cualquier profesional pueda comprender lo que está ocurriendo, y lo que se está haciendo y por qué.

En este trabajo nos basaremos, en una primera parte, en la recopilación de los trabajos que se han ido publicando sobre la utilización desarrollo y efectos de los factores de crecimiento en el cartílago articular y en su capacidad de reparación de los mismos. El guión lo tomaremos de los trabajos realizados por Carme Soler i Canet e Iván Serra Aguado: Desarrollo de un modelo experimental para la evaluación de lesiones en cartílago articular, tras tratamiento con plasma rico en factores de crecimiento y condroitín sulfato en el caso de Iván Serra, y ácido hialurónico en el caso de Carme Soler. Es necesario conocer la bioquímica y el funcionamiento biológico para creer luego en su efecto clínico terapéutico.

En otra de las partes del artículo, se expondrá el desarrollo clínico en los diferentes casos clínicos estudiados, casos reales con patologías en diferentes articulaciones.

Ya nadie puede dudar de que el futuro inmediato de las disciplinas sanitarias pasa por la medicina biológica, el conocimiento de los genes y su acción. Esto, junto al desarrollo de la ingeniería de las células madres, nos ayudará cada vez más a destruir, reconstruir y mantener las complicadas estructuras orgánicas.

Cuando todo funciona bien, la aplicación de factores de crecimiento a la lesión conduce a la regeneración, y/o reparación del tejido y, en casos desfavorables, a la degeneración crónica a consecuencia de la lesión, pero no influida por los FC.

La proyección vital hacia la longevidad, hace que las enfermedades degenerativas ocupen cada día más un espacio importante en la dedicación del profesional. Necesitamos armas no agresivas pero sí invasivas para contrarrestar los efectos de la degeneración y restituir o modificar las estructuras dañadas, para que se pueda conseguir una buena funcionalidad. En el caso del cartílago articular, es evidente que su desgaste es lógico al devenir de los años, por lo que necesitamos rectificar y ayudar al rozamiento fácil para que la articulación funcione y la extremidad pueda moverse.

Llevamos ya algunos años confiando y trabajando en este proyecto. Los resultados clínicos ya están sobre la mesa y son satisfactorios, ahora intentaremos demostrarlos por la vía del empirismo laboratorio experimental y científico.

Descripción y mecanismos de acción

Lo primero que deberemos entender es qué son los factores de crecimiento (FC).

Los FC son sustancias de naturaleza polipeptídica, solubles y disolubles, que regulan el crecimiento, diferenciación y fenotipo de numerosos tipos de células, entre ellas los condrocitos (Vega y cols., 2000).

Es evidente que los factores de crecimiento liberados tras la desgranulación de las plaquetas en el lugar de la lesión proporcionan las señales iniciales para la activación de las células integrantes de los tejidos que rodean las mismas. Como respuesta a las señales que proporcionan estas moléculas, las células locales y las infiltradas sufren cambios en la proliferación, diferenciación y síntesis de proteínas con distintas funciones biológicas. Todos estos fenómenos, en conjunto, definen el proceso que se conoce como activación celular (Reed y cols. 2000).

Factores de crecimiento que se encuentran en el PRFC

El 25 % del volumen total del plasma es el PRFC (plasma rico en factores de crecimiento). Es la fracción plasmática situa-

da inmediatamente por encima de la serie roja y la serie blanca, muy rica en plaquetas (equivale a tres veces las plaquetas que encontramos en la sangre periférica). Dicha fracción posee mayor cantidad de factores de crecimiento, es superior a otras divisiones plasmáticas [2].

La aplicación de los factores de crecimiento comienza a partir de su utilización en cirugía maxilofacial [3]. Después de estos trabajos y experiencias clínicas empiezan a emplearse principalmente en cartílago articular, en lesiones degenerativas y/o traumáticas.

Los factores de crecimiento de esta preparación actúan de forma autocrina y/o paracrina. Afectan al comportamiento celular uniéndose a receptores específicos situados en la membrana de las células. No todos los fenotipos celulares tienen los mismos receptores, debido a estos fenó-

menos el efecto de los factores de crecimiento no será el mismo en todos los tejidos ni en todas las situaciones.

Los factores de crecimiento que forman parte de los PRFC, y que actúan en la reparación y regeneración de los tejidos son [4]:

- FC insulínico tipo I (IGF-I)
- FC fibroblástico básico (bFGF o FGF-2)
- FC transformante β -1y β -2 (TGF β -1y TGF β -2)
- FC derivado de las plaquetas (PDGF)
- FC epidérmico (EGF)
- FC nervioso (NGF)
- FC hepatocítico (HGF)
- FC vascular endotelial A y C (VEGF)

IGF-I

La mayoría de los factores de crecimiento son sintetizados por el megacariocito, pero el IGF-I y la proteína que modula su actividad biológica, IGFBP-3 (*insulin growth factor binding protein-3*) se sintetizan en el hígado y se liberan al torrente circulatorio donde son las plaquetas las encargadas de captar el factor por endocitosis y almacenarlo en los gránulos alfa [5].

Éste es quizás el factor de crecimiento del que mejor se conoce su actividad sobre la proliferación y desarrollo de los condrocitos del cartílago y de su crecimiento.

Ejerce procesos anabólicos tanto en fases del desarrollo como en etapas adultas, favoreciendo la síntesis de proteoglicanos y colágeno II. A su vez destruye la matriz extracelular, incluida la inducida por IL-1.

Por otro lado el IGF-I estimula la síntesis de integrinas alfa 3 y 5 en la superficie de los condrocitos y favorece la adhesión de éstos a la fibronectina y al colágeno II.

Los condrocitos de la superficie cultivados en presencia de IGF-I producen una mayor síntesis de los proteoglicanos, que coincide con un aumento en la expresión de su receptor.

bFGF

Es un polipéptido relacionado estructuralmente con los mitógenos "heparin binding". Sus efectos biológicos se regulan mediante los receptores de la superficie con alta afinidad. Desarrollan su actividad a partir de la tirosina-quinasa [6].

Los factores de crecimiento que están ligados a la heparina incluyen nueve proteínas; al unirse a las plaquetas producen la angiogénesis y estimulan la proliferación de células endoteliales. ▶



Figuras 1 y 2. Aspecto radiológico antes de la aplicación de los factores de crecimiento.



Figuras 3 y 4. Aspecto de la remodelación articular al año y medio de la aplicación de los factores.

Papel de los factores de crecimiento en la reparación de los tejidos

Para comprender el papel de los factores de crecimiento en la reparación de los tejidos, debemos ver cómo se produce el proceso [1].

- Fase inflamatoria aguda.
- Proliferación y reparación.
- Remodelado.

Desde una perspectiva molecular la respuesta de los tejidos a una lesión se caracteriza por un perfil determinado en la secreción y actividad de los factores de crecimiento, que variará dependiendo de la fase de reparación. Estos factores actuarán mejor o peor dependiendo de la respuesta biológica de la lesión con respecto a los mismos.

En una primera fase aguda inmediatamente después de la lesión, los daños ocasionados en las membranas celulares, originan cambios en la permeabilidad vascular y como consecuencia trasvase de fluidos, vasoconstricción reactiva, isquemia y cambios metabólicos. En la clínica este proceso inflamatorio generalmente viene acompañado de eritema, dolor, y pérdida de función. En todos estos procesos intervienen cambios vasculares, celulares y químicos, que van evolucionando en el transcurso de las distintas fases.

Cuando todo funciona bien, cuando es biológicamente correcto, este fenómeno de aplicación de factores de crecimiento a la lesión conduce a la regeneración, y/o reparación del tejido y, en casos desfavorables, a la degeneración crónica a consecuencia de la lesión, pero no influida por los FC.

La aplicación de los FC puede no actuar ni reparar, pero no actúa degenerando más.

La fase inflamatoria se caracteriza por un aumento de la vasodilatación inducida por el óxido nítrico (NO), y un incremento del flujo sanguíneo que facilita el movimiento secuencial que provoca el traslado de poblaciones celulares hacia el lugar de la herida.

Los neutrófilos, monocitos y macrófagos limpian la zona actuando

como fagocitos llevándose los restos celulares del tejido afectado.

Las señales iniciales que son determinadas por el coágulo sanguíneo son amplificadas por los macrófagos.

En la segunda fase, la fase de proliferación y reparación, los cambios más sustanciales son la formación de coágulos de fibrina, la migración de fibroblastos y células progenitoras que al proliferar sintetizan proteínas de la matriz extracelular, principalmente colágeno. Al final de esta fase, el coágulo provisional de fibrina queda sustituido por una estructura de colágeno. Es la estructura del llamado tejido de granulación. Paralelamente se ha producido la angiogénesis.

En la fase final de remodelado, el tejido se reestructura y se sustituye por un tejido mejor organizado. Se orientan las fibras de colágeno, hay menos contenido celular y vascular y una matriz extracelular más densa. Es un tejido más determinado y más específico.

Cuando aplicamos factores de crecimiento en una lesión sustituimos el coágulo sanguíneo que se forma tras la rotura de vasos en la fase inicial, constituida por plaquetas, hematíes, y leucocitos, por un coágulo blanco formado por una red de fibrina muy rico en plaquetas. Esta aplicación cambia el entorno bioquímico de la lesión y la evolución clínica, disminuyendo la inflamación y acelerando la fase de proliferación y reparación.

En este momento es cuando podemos hablar de enyesado o inicio de recubrimiento de la lesión. Este proceso se activa tras la adición del cloruro cálcico al plasma rico en factores de crecimiento (PRFC). Se produce un vaciado de los gránulos alfa, formando un coágulo de fibrina que proporciona una matriz provisional. Esta matriz actúa como soporte de las células infiltradas, neutrófilos, monocitos, fibroblastos, células progenitoras y células endoteliales, facilitando la angiogénesis en su interior así como la deposición del tejido reparador definitivo. Una vez esta fibrina cumple su papel como molde es reabsorbida (Sánchez y cols. 2003, A. Tarrago y cols. 2003).

Sobre la matriz extracelular puede favorecer y/o inhibir la formación de proteoglicanos. En los condrocitos de la placa de crecimiento puede actuar favoreciendo al IGF-I y sus efectos pueden ser contrarrestados por el TGFβ.

La presencia de EGF, junto al TGFβ y HGH, explica los efectos curativos de la saliva, recurso que conocemos muy bien al ser utilizado por los animales.

NGF

Las neurotrofinas actúan sobre algunas neuronas específicas y sobre algunos tejidos no nerviosos. Su acción es a partir de dos tipos de receptores, los de alta afinidad y los de baja afinidad. Todavía se desconoce cual es realmente su actuación sobre el cartílago articular.

No todos los fenotipos celulares tienen los mismos receptores, debido a estos fenómenos el efecto de los factores de crecimiento no será el mismo en todos los tejidos ni en todas las situaciones.

Lo que sí se ha podido demostrar es que el NGF, produce un aumento en la síntesis del ADN y de los glicosaminoglicanos en el cartílago en su fase de desarrollo.

HGF

Se describe en 1992 como mitógeno para los hepatocitos. Se encuentra en los gránulos alfa de las plaquetas, es una proteína multifactorial. No se conoce efecto en el cartílago articular.

VEGF

Se aisló en 1970 como mediador de la permeabilidad vascular. Actúa como mitógeno de los hepatocitos. Se trata de una proteína multifuncional presente en un gránulo alfa plaquetario. Presenta una acción sinérgica con el FGF y actúa sobre los receptores tirosina quinasa en las células endoteliales.

Tres de los factores presentes en el plasma rico en factores de crecimiento se caracterizan por su participación activa en la angiogénesis. □

► El bFGF se encuentra en el condrocito del cartílago articular. Sobre la matriz extracelular estimula la síntesis de los proteoglicanos y, a su vez, suprime la síntesis del condroitín-6-sulfato, potencia la acción de la IL-1 y favorece la expresión de colagenasa-3 en unas líneas celulares de condrosarcoma.

TGFβ

Su conocimiento data de 1983. Estimula la proliferación celular de forma independiente y de forma similar a como actúan las proteínas morfogenéticas óseas (PMO) [7].

Su presencia es importante en las plaquetas, ya que su ausencia retarda el proceso de reparación. Es especialmente pleiotrópico, actúa como sustancia reguladora del crecimiento celular. Muchas de sus acciones van encaminadas a regular la acción de otros factores tróficos. Inhibe la acción de IL-1.

Se encuentra presente en el líquido sinovial y en el cartílago a niveles altos.

Su actuación todavía es muy contradictoria, por lo que se desconoce exactamente su acción sobre los proteoglicanos, metaloproteinasas, etc.

PDGF

Este factor se descubrió en 1970, es un dímero formado por dos cadenas [8]. Hasta ahora se conocían tres isoformas: AA, BB, AB; que se unen a dos tipos específicos de receptores alfa y beta. La unión a los receptores alfa tiene efectos quimiotácticos y la unión a receptores beta efectos muy positivos en la proliferación tisular y también ayuda a la modulación de otros factores. Presenta un gran efecto mitógeno sobre los fibroblastos, células endoteliales y musculares.

Son liberados por las plaquetas sobre los puntos donde existen lesiones, estimulan la proliferación de las células mesangiales y otras células y de los condrocitos. Es uno de los factores que actúa de forma más directa en el efecto de

enyesado o rellenado de las lesiones. Se han identificado la cadena C y D y se está estudiando su presencia en las plaquetas y sus funciones.

El PDGF favorece la producción de algunos componentes de la matriz y previene el proceso de maduración endocondral.

Experimentalmente en ratas aumenta la capacidad osteogénica en las capas profundas del cartílago.

Se ha encontrado una relación muy directa con HB-GAM o pleiotrofina, una citoquina que posiblemente está presente en casi todas las acciones del PDGF. Actualmente se está investigando en este campo.

EGF

Se encontró en 1962 en las glándulas salivares, fue el primer factor de crecimiento localizado [9]. Presenta un efecto estimulante sobre la epitelización. Actúa sobre los fibroblastos y fibras musculares lisas y aumenta la síntesis del ADN en los condrocitos, dependiendo de la edad.



ARGOS