

Heberprot-P: antecedentes experimentales y bases farmacológicas

Jorge Berlanga

División de Farmacéuticos, Investigaciones Biomédicas
Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, CIGB
Ave. 31 entre 158 y 190, Cubanacán, Playa, CP 10 600, Ciudad de La Habana, Cuba
E-mail: jorge.berlanga@cigb.edu.cu

REVISIÓN

RESUMEN

El Heberprot-P constituye un novedoso medicamento encaminado a solucionar una necesidad médica no cubierta: la cicatrización de la úlcera de alto grado de miembros inferiores de pacientes diabéticos. Su ingrediente farmacéutico activo es el factor de crecimiento epidérmico humano recombinante (EGFhr). Este polipéptido ha sido conservado a lo largo del proceso evolutivo y desempeña un importante papel en la vida intra y extrauterina de los mamíferos. La identificación preliminar de sus efectos epiteliotropos y mitogénicos condujo a su prematura evaluación como cicatrizante. Nuestro Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología produce EGF humano recombinante desde 1988. A partir de 1991 desarrollamos un intenso programa de experimentos sobre sistemas in vivo que recreaban diversas patologías humanas. Estos estudios permitieron la identificación de novedosos efectos farmacológicos asociados a la administración sistémica o parenteral del EGF; y en consecuencia sugerir nuevas indicaciones terapéuticas para procesos tributarios de efecto cito-protector. Desde 1995 habíamos demostrado que el tratamiento infiltrativo local con EGF en las extremidades posteriores de ratas, mitigaba los efectos degenerativos en nervios periféricos así como los efectos necrogénicos sobre piel y planos blandos denervados. Estudios ulteriores evidenciaron la capacidad del EGF para rescatar órganos y tejidos de la muerte por isquemia/reperfusión y modelos de daño multi-orgánico bajo esquemas preconditionantes o terapéuticos agudos. Durante esa década demostramos la necesidad de preservar el EGF ante el efecto de proteasas derivadas de heridas controladas agudas. Todos estos aspectos constituyeron piezas de conocimiento que nutrieron la hipótesis acerca del efecto favorable de la infiltración intralesional del EGF en las úlceras, para rescatar y perpetuar células bajo adecuada biodisponibilidad local del EGF.

Palabras clave: Factor de crecimiento epidérmico, Heberprot-P, cicatrización, úlcera del pie diabético, citoprotector, preclínica, toxicología

Biotecnología Aplicada 2010;27:81-87

ABSTRACT

Heberprot-P: experimental background and pharmacological bases. Heberprot-P is a novel drug intended to solve an unmet medical need: to heal high-grade, poor-prognostic ulcers which affect lower limbs of diabetic patients. The human recombinant epidermal growth factor (hrEGF) is the active pharmaceutical ingredient of Heberprot-P. EGF is a highly evolutionarily conserved polypeptide playing a significant role on the intra and extra-uterine life in mammals. Based on the early findings of its epitheliotropic and mitogenic effects, it was prematurely intended as healing agent for problematic wounds. Our Center for Genetic Engineering and Biotechnology manufactures hrEGF since 1988. About 1991, we unleashed an intense experimental research program on in vivo systems which somewhat mirrored a variety of human pathological conditions. Those studies accounted for the identification of novel pharmacological effects associated to the systemic or parenteral administration of EGF. Henceforth it enabled us to envision new therapeutic indications to treat processes requiring cytoprotective effects. We had demonstrated since 1995, that the local infiltration of EGF in the hindlimbs of rats, mitigated the degenerative process on peripheral nerves and soft-tissues undergoing the consequences of denervation. Further studies evidenced the ability of EGF to rescue tissues and organs from death by ischemia/reperfusion events, and also in models of multiorgan damage under acute preconditioning or therapeutic schedules. During that decade, we demonstrated the need to preserve EGF from the action of proteases released in full-thickness controlled wounds. All these aspects were pieces of knowledge supporting the hypothesis on the beneficial effect of the intralesional infiltration of EGF to rescue and perpetuate cells in diabetic ulcers ensuring an appropriate local bioavailability.

Keywords: Epidermal growth factor, Heberprot-P, wound healing, diabetic foot ulcer, cytoprotective, preclinical, toxicology

Introducción

El Heberprot-P es un novedoso medicamento que ha venido a solucionar una necesidad médica no cubierta a nivel mundial: la úlcera de alto grado/mal pronóstico de miembros inferiores de pacientes diabéticos. El medicamento ha sido desarrollado en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, y como tal constituye un legítimo medicamento de la Biotecnología

Cubana-soñada, diseñada y estructurada por Fidel hace más de 20 años.

El fármaco contiene como ingrediente activo al factor de crecimiento epidérmico humano obtenido por vía recombinante (EGF). Ha sido diseñado para ser infiltrado en el interior de los bordes y fondo de estas lesiones en respuesta a necesidades biológicas

La administración sistémica de EGF a concentraciones supra-fisiológicas es capaz de inducir respuestas biológicas como las que se describen más arriba, y que por tanto pueden traducirse en acciones farmacológicas por extensión o amplificación de la respuesta biológica [3].

Cuba produce EGF humano recombinante

El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de La Habana, Cuba, produce EGF humano recombinante desde 1988 como una mezcla de isoformas de 51 y 52 aminoácidos. En ese entonces, nuestro país fue uno de los pioneros en obtener esta proteína por técnicas de ingeniería genética. Este producto ha sido sometido a una extensa batería de estudios preclínicos en las esferas de toxicología y farmacología experimental. Es sin dudas el ingrediente farmacéutico activo con la constelación más amplia y diversa de investigaciones preclínicas. Numerosos estudios farmacológicos con este producto han sido realizados en el CIGB y otras instituciones de nuestro país. Otros han sido realizados con la colaboración de grupos extranjeros de alto mérito científico. El EGF producido en el CIGB fue examinado y caracterizado por un grupo de investigadores británicos demostrándose su alta calidad basada en su integridad físico-química, su pureza y su potencia biológica. Estos avales posibilitaron y facilitaron su empleo en un exitoso ensayo clínico en ese país [4, 5]. Desde hace ya 20 años Cuba dispone del Hebermin, formulación farmacéutica semisólida basada en EGF, útil para estimular la cicatrización de lesiones cutáneas agudas.

Antecedentes y estudios experimentales. Bases de farmacología preclínica del EGF

Los modelos experimentales empleados en los estudios de farmacología experimental con el EGF han sido extensamente explotados y gozan de plena vigencia científica. Estos biomodelos *ad integrum* han permitido la delineación de novedosos efectos farmacológicos para esta proteína, y en consecuencia sugerir nuevas indicaciones terapéuticas para las patologías que con carácter experimental representan. La repetibilidad y reproducibilidad de los modelos animales utilizados confirman su solidez y utilidad. La década de los años 90 fue la base de sustentación académica para el desarrollo de la farmacología de la administración sistémica de EGF en Cuba y otros países. De manera secuencial describimos los estudios que realizamos en nuestro centro durante aquellos años.

Empleando un sistema experimental extensamente explotado en la farmacología canónica basado en la prevención y atenuación del daño gástrico, se estudió en 1992 el potencial efecto cito-protector y particularmente gastro-protector del EGF en ratas expuestas a la instilación oral de etanol. El EGF fue administrado por vía oral bajo esquemas profiláctico / pre-condicionante y en un esquema terapéutico. Este simple ensayo constituyó el primero de una generación de estudios dedicados a evaluar los efectos protectores del EGF. Bajo estas condiciones experimentales el EGF mostraba prevenir y atenuar el daño gástrico de forma dosis dependiente. Curiosamente, el efecto de

prevención, asociado al tratamiento profiláctico mostraba claras evidencias de la potencia protectora del EGF a un sustrato epitelial desafiado por un agente necrogénico. En otras palabras, el EGF parecía activar o pre-condicionar fuerzas celulares que se oponían a los efectos letales de un químico externo. Estos datos nunca fueron publicados pero han contribuido al enriquecimiento documental de nuestros registros sanitarios.

Imbuídos por curiosidad y el entusiasmo de los resultados anteriormente expuestos, decidimos evaluar por primera vez el efecto de la inyección sistémica de EGF. Aspirábamos a conocer su efecto protector en un modelo animal de relevancia clínico-patológica, y en un contexto tisular nada relacionado con las partes altas del sistema digestivo. En esos momentos la literatura estaba saturada de demostraciones en ratas que reproducían las úlceras de Curling. De tal modo, consideramos el examinar el efecto neuroprotector de la inyección peri-lesional de EGF en ratas sometidas a una axotomía total transversal del nervio ciático a la altura de la región coxo-femoral. Se estudió la respuesta de regeneración morfo-funcional del axón y de síntesis de mielina por el nervio y sus células. En dos estudios independientes y extemporáneos se demuestra reproduciblemente que el tratamiento ejerció los siguientes efectos:

a) Favoreció significativamente el restablecimiento de la conducción nerviosa motora a los 60 días de provocado el trauma, efecto tardío del tratamiento ya que el EGF fue administrado por sólo 20 días.

b) Favoreció la recuperación del axón y de la mielina, previno o atenuó los cambios sugerentes de degeneración intra-axonal. De forma dosis dependiente, el EGF favorecía la supervivencia de las células productoras de mielina próximas al punto de sección y contribuía a una remielinización más fisiológica.

c) Previno o postergó significativamente el debut de cambios tróficos de los tejidos blandos de la extremidad (piel y anejos). Se dilató la presencia de úlceras plantares y la necrosis de los dedos (Figura 2).

Los efectos citoprotectores del EGF se hacían evidentes sobre el tejido nervioso; hallazgo conservadoramente novedoso en aquel entonces. Sin embargo, totalmente inédita era la repetida observación de que el EGF podía proteger a los tejidos blandos periféricos de una extremidad denervada. La prevención de la caída de los pelos ante estas condiciones fue tal vez la respuesta más precoz al tratamiento infiltra-

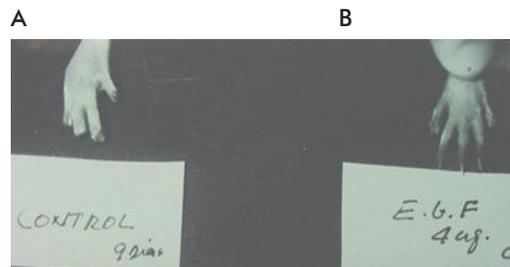


Figura 2. Nótese el efecto del EGF en la protección de las partes distales de la extremidad denervada, luego de transcurridos nueve días, cuando ya los animales del grupo salino habían perdido los dedos.

3. Boonstra J, Rijken P, Humbel B, Cremers F, Verkleij A, van Bergen en Hengowen PB. The epidermal growth factor. *Cell Biol Int* 1995;19:413-30.

4. Sinha A, Nightingale J, West KP, Berlanga-Acosta J, Playford RJ. Epidermal growth factor enemas with oral mesalamine for mild-to-moderate left-sided ulcerative colitis or proctitis. *N Engl J Med* 2003;349:350-7.

5. Calnan DP, Fagbemi A, Berlanga-Acosta J, Marchbank T, Sizer T, Lakhoo K, et al. Potency and stability of C truncated human epidermal growth factor. *Gut* 2000; 47:622-7.

tivo con EGF. El hecho de que el EGF mostrara un efecto anti-necrogénico en el contexto experimental ensayado, sugería una inusitada capacidad citoprotectora con alta potencialidad de aplicación terapéutica de acuerdo con la relevancia fisiopatológica del modelo de lesión implementado. La sección del nervio ciático entrañaba un brusco deterioro del neurotono vascular y de la reserva vasomotora, lo que incuestionablemente tendría negativas consecuencias sobre la irrigación con sangre oxigenada a la piel, así como en su retorno venoso. En otras palabras, la posibilidad de instaurar el manejo farmacológico de un proceso de hipoperfusión tisular de causa neurogénica comenzaba a establecerse [6, 7]. Esta constituyó también la primera demostración de efecto cito-protector en tejidos blandos periféricos.

A este experimento le sucedieron otros a lo largo de una década y que estuvieron más enfocados en el estudio del potencial efecto cito-protector del EGF contra episodios experimentales de isquemia, al ser administrado vía parenteral bajo esquemas de acondicionamiento farmacológico, o terapéuticos de inyecciones reiteradas. Así, comenzamos evaluando el potencial efecto hepato-protector del EGF en un sistema experimental que invocaba la inducción de efectos anti-inflamatorios y antioxidantes para poder rescatar los hepatocitos. Se administró el EGF por vía intraperitoneal en ratas 30 minutos antes de ser retadas con el hepatotóxico tetracloruro de carbono. El experimento demostró el efecto hepato-protector del EGF, expresado en una reducción sustancial de la necrosis del parénquima del órgano al compararse con los animales del grupo control de solución salina fisiológica [8]. Los efectos se observaron de forma dosis dependiente; constituyendo la primera demostración del efecto de protección del EGF contra un agente citotóxico cuyo mecanismo de daño se relaciona con la peroxidación lipídica. Para demostrar en un escenario más realista y de impacto clínico la capacidad de defensa anti-oxidante recién descrita, abordamos un experimento de isquemia / reperfusión. El más cómodo y asequible de los modelos a considerar en aquellos momentos era la isquemia renal bilateral, reproduciblemente logrado en el laboratorio del extinto profesor Ernesto Barber. De forma dosis dependiente el tratamiento pre-condicionante prevenía el deterioro morfológico y funcional del tejido renal. Así, en los animales tratados con EGF se constató una significativa reducción en los niveles de todos los marcadores de estrés oxidativo estudiados y en la actividad de la PLA-A₂ como precursora de mediadores pro-inflamatorios y de agentes relacionados con el espasmo de los vasos renales [9]. La figura 3, ilustra los efectos protectores del tratamiento.

Nuestro grupo abordó un segundo estudio de isquemia / reperfusión. Este experimento concebía el ocluir de forma temporal la arteria mesentérica superior que irriga los segmentos de yeyuno e íleon. Además de demostrar el efecto cito-protector del EGF ante la isquemia este experimento constituiría una suerte de preámbulo teórico hacia modelos de daño múltiple de órganos (DMO). Sin proponernos el objetivo de primera intención, este experimento *per se* constituyó una excelente reproducción de múltiples órganos dañados. Es conocido que durante la fase de reper-

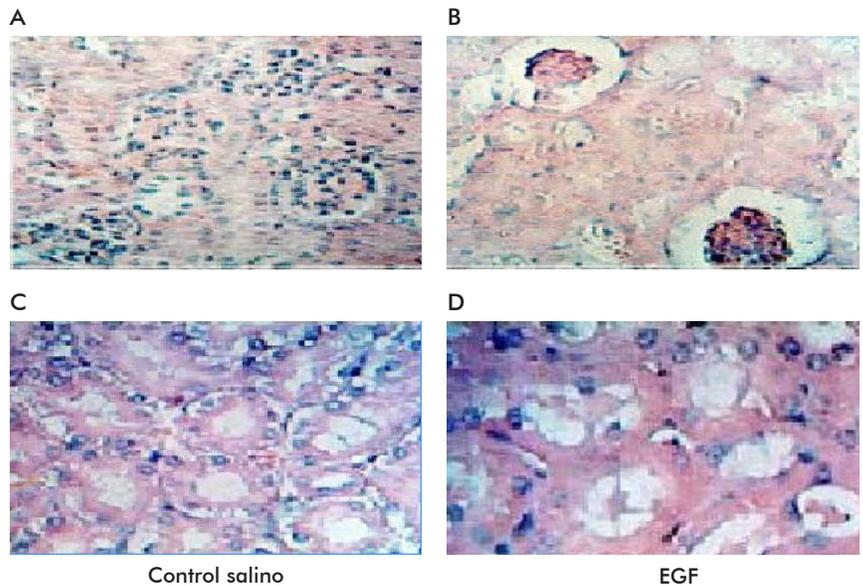


Figura 3. Imágenes histológicas representativas del efecto del tratamiento único y preconditionante con EGF antes de inducir un episodio de isquemia/reperfusión renal. Nótese la conservación de la estructura del ovillo glomerular (B) y de la integridad de los túbulos (D). Contrariamente los animales que reciben solución salina muestran una marcada retracción del ovillo glomerular (A) y material eosinofílico en los túbulos(D).

fusión del intestino delgado se instaura un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) que cursa con la elevación de los niveles séricos de TNF- α y con expresión morfológica en varios órganos como pulmones en forma de un edema de permeabilidad capilar en el septum que recuerda al Síndrome de Distress Respiratorio del Adulto (SDRA); y en riñones, reproduciendo un cuadro de necrosis tubular aguda. Notoriamente, ocurre elevación de los niveles de MDA como marcador de peroxidación lipídica en diversos tejidos internos, así como de la enzima mieloperoxidasa (MPO) como indicador inflamatorio de

6. Prats P, Castañeda L, Berlanga J, Falcón V, Rodríguez V, Suarez-Muria C. El factor de crecimiento epidérmico en lesiones del sistema nervioso periférico. Rev Mex Cienc Farm 1998;29:17-23.

7. Prats P, Castañeda L, Falcón V, Ortega R, de la Rosa MC, Menéndez I, et al. Efecto del Factor de Crecimiento Epidérmico sobre la regeneración del nervio ciático transectado en ratas. Biotecnol Apl 1998; 15:237-41.

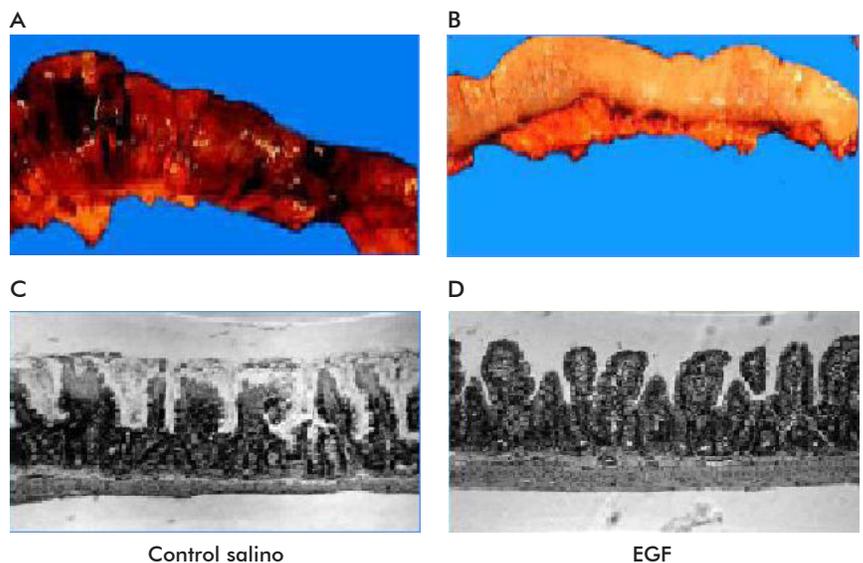


Figura 4. Diferencia ostensible en el aspecto macroscópico y microscópico de muestras obtenidas de animales que se trataron con EGF y de los que recibieron solución salina fisiológica.

neutrófilos activados y secuestrados en el parénquima de los tejidos. En los animales tratados con la administración única y profiláctica de EGF se demostró una significativa prevención de los daños intestinales como la hemorragia y los infartos parcelares (Figura 4). También se redujo significativamente el patrón de daño pulmonar y renal. Desde el punto de vista bioquímico se demostró que el tratamiento con EGF atenuó el proceso de formación de especies reactivas de oxígeno, así como la actividad de la enzima MPO. Un hallazgo interesante fue la demostración de que en los grupos tratados con EGF los niveles circulantes de TNF- α fueron sustancialmente menores [10]. Concluyentemente sólo restaba establecer un modelo de DMO y evaluar al EGF en un sustrato patológico letal y de deterioro orgánico progresivo.

Luego de demostrar que el EGF en administración única, pre-condicionante posee efectos entero, hepato y nefro-protectores, manifiestos de forma dosis dependiente, se procedió a examinar la capacidad del EGF para establecer un efecto cito-protector sistémico y simultáneamente expresado en varios órganos epiteliales internos. Con este propósito se estableció por nuestro grupo un modelo de DMO estéril, inducido por quemadura severa, en el cual ratas y ratones recibieron lesiones hipodérmicas de un 25-30% de su superficie corporal [11]. Los animales recibieron una administración única de EGF 30 minutos antes de provocar la quemadura. Los resultados mediados por el efecto del tratamiento se expresaron en: i) significativa reducción de la mortalidad acumulativa en tres estudios independientes; ii) reducción de daños renales; y iii) reducción de daños gastrointestinales. La figura 5, muestra la sustancial diferencia existente en la integridad de la mucosa del yeyuno e ileon entre animales que se trataron con EGF (B) y aquellos que sólo recibieron solución salina (A).

Este constituye el primer estudio en el que se demostró la capacidad de una inyección única y profiláctica de EGF para inducir protección a varios órganos de forma simultánea, y que no resultaba abortada tras un estrés tan severo como una quemadura con repercusión en los órganos internos. En una segunda demostración [12], en la que DMO fue inducido por una sustancia química bloqueadora de procesos metabólicos mitocondriales; la intervención profiláctica o terapéutica con EGF se tradujo en un incremento significativo de la supervivencia de los animales, en la prevención de los daños a riñones, hígado e intestinos; así como en la reducción de numerosos marcadores bioquímicos de alteración funcional en diferentes órganos.

En un estudio posterior consideramos oportuno evaluar la respuesta intestinal ante la exposición continua al EGF. Hasta ese entonces se conocía que el EGF y otros factores de crecimiento de la misma familia ejercen un efecto trófico sobre la mucosa del sistema gastrointestinal, sin embargo no se habían descrito las bases que mediaban esta respuesta. Entre otros propósitos nuestro trabajo estaba encaminado a fundamentar científicamente la posibilidad de emplear la administración sistémica de EGF con vistas a regenerar tejido y masa intestinal. La infusión continua del factor de crecimiento (60 μ g/kg/día) se garantizó de manera uniforme mediante minibombas subcutáneas. El estudio permitió conocer [13] que tanto la proliferación

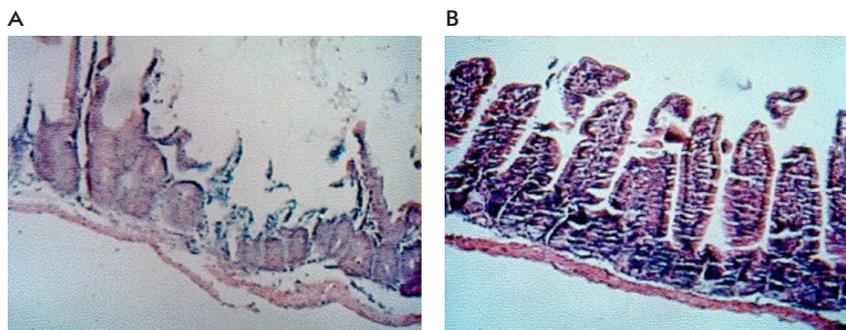


Figura 5. Protección de la mucosa intestinal tras la administración de EGF. A) Control de solución salina. B) EGF.

de células en la cripta y su proceso de fisión son mecanismos independientes pero complementarios para el efecto trófico del EGF en este tejido. Se demostró que el segmento colónico es particularmente sensible al EGF, observándose un incremento en el índice de criptas en fisión y que luego revierte, lo que sugiere un mecanismo endógeno de control del crecimiento tisular. Por otra parte el trabajo demuestra un potente efecto del EGF en el crecimiento de la vellosidad intestinal de los distintos segmentos del intestino delgado en animales que reciben alimentación enteral.

La figura 6 muestra el efecto del EGF en el crecimiento de vellosidades y fisión de criptas a los pocos días de iniciado el tratamiento. Nótese la diferencia con animales que reciben solución salina fisiológica. Este estudio establece las bases potenciales para emplear el EGF en procesos patológicos en los que se requiere regenerar masa y tejido intestinal, así como corregir el proceso de atrofia o aplanamiento de las vellosidades y por lo tanto incrementar su área de absorción.

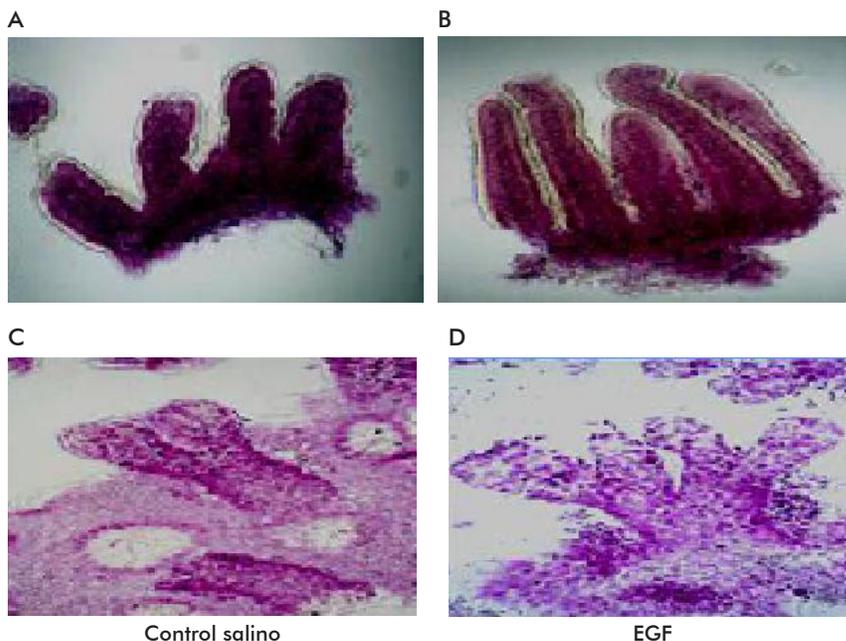


Figura 6. Efecto trófico de la infusión continua de EGF sobre estructuras del intestino delgado (B,D) comparado con la administración de solución salina (A, C). Estas evidencias sugieren la potencialidad del uso clínico de la administración sistémica y reiterada de EGF para acelerar la regeneración intestinal en episodios de atrofia.

8. Berlanga J, Caballero ME, Ramírez D, Torres A, Valenzuela C, Lodos J, et al. Epidermal growth factor protects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury. *Clinical Science (Lond)* 1998;94: 219-23.

9. Caballero ME, Calunga J, Barber E, Cruz E, López-Saura P, Boix E, et al. Epidermal Growth Factor-mediated prevention of renal ischemia/reperfusion injury. *Biotechnol Apl* 2000;17:161-5.

10. Berlanga J, Prats P, Ramirez D, González R, Lopez-Saura P, Aguiar J. Prophylactic use of epidermal growth factor reduces ischemia/reperfusion intestinal damage. *Am J Pathol* 2002;161:373-9.

11. Berlanga J, Lodos J, López-Saura P. Attenuation of internal organs damages by exogenously administered epidermal growth factor (EGF) in burned rodents. *Burns* 2002;28:435-42.

Estudios en los que el EGF fue co-administrado con el Factor de Crecimiento de Queratinocitos (KGF) demostraron que bajo el tratamiento con EGF es posible revertir la atrofia intestinal, y que cuando se administra de forma concurrente con KGF, existe una amplificación de la respuesta [14]. Este experimento corrobora evidencias previas acerca del efecto trófico que ejerce el EGF sobre la mucosa del tubo gastro-intestinal. Este y otros estudios posteriores forman parte de un bloque de trabajo acerca de los efectos del EGF sistémico sobre el sistema digestivo. Estos ofrecen las bases teóricas para corregir la atrofia y estimular la cicatrización de la mucosa intestinal y no menos relevante, mejorar el estado del organismo en el síndrome de mal absorción.

Finalmente, el más reciente trabajo [15] de nuestro grupo demuestra que una administración pre-condicionante única de EGF sólo o en combinación con el péptido liberador de la hormona de crecimiento 6 (del inglés: growth hormone releasing peptide 6 (GHRP-6) ejerce un potente efecto de protección sobre el parénquima del hígado sometido a 120 minutos de isquemia y tres horas de reperfusión en ratas. Los daños remotos en órganos distales como pulmones, intestino delgado y riñones consecuentes de la activación de la cascada pro-inflamatoria también resultan significativamente atenuados, confirmando su efecto de cito-protección sistémica (Figura 7).

Transcurridos años de trabajo con el EGF en diversos sistemas biológicos experimentales, es posible concluir que el EGF administrado a concentraciones supra-fisiológicas es capaz de inducir dos efectos farmacológicos básicos: 1) Citoprotección, que se establece de forma rápida y tras una administración única; y 2) Trófico-Reparadores, que dependen de administraciones reiteradas y más o menos prolongadas. Con creces, considerando la balanza riesgo/beneficio se indican claramente las bondades y virtudes del empleo del EGF para el tratamiento de nichos aún huérfanos en la medicina clínica.

La racionalidad del tratamiento infiltrativo de la ulcera del pie diabético se basa en hallazgos de nuestro grupo que demostraron una reducida biodisponibilidad local del factor al ser aplicado tópicamente sobre heridas agudas controladas de grosor total.

Estudios de seguridad preclínica. Consideraciones acerca del potencial transformante del EGF

Como ya se ha mencionado, el EGF ha sido sometido a una amplia batería de estudios de seguridad preclínica en esquemas de administración reiterada y a largo plazo en diferentes especies de animales de laboratorio. También se han realizado pruebas de genotoxicidad con resultados negativos. Hasta el presente todas las evidencias indican que el EGF exógena y reiteradamente administrado al menos bajo las condiciones de trabajo que se han empleado, no inicia el proceso de transformación maligna de células con un sustrato genéticamente indemne (ver revisión [16]). Sin embargo, experimentos clásicos establecieron claramente que el EGF promueve la carcinogénesis química y viral (ver revisión [17]) en animales y células respectivamente. Dicho de otra forma, las células en cultivo o en el organismo de animales de laboratorio que han sido previamente expuestas a virus o sustancias car-

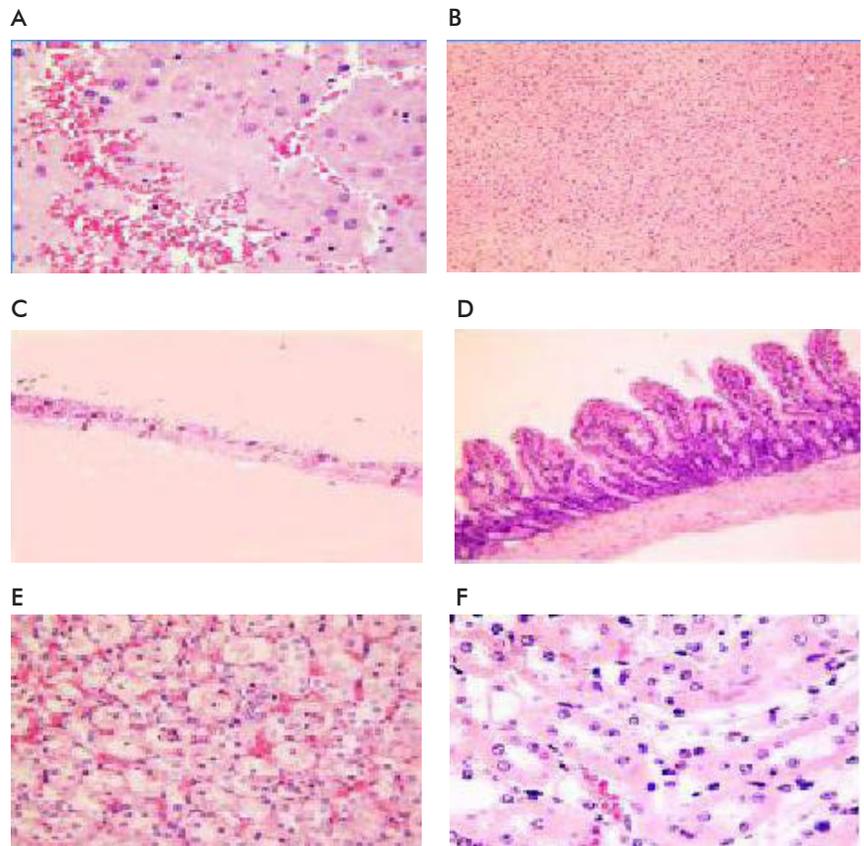


Figura 7. Efecto citoprotector del tratamiento con EGF. El panel superior, correspondiente a cortes de hígado, destaca la diferencia en la integridad del parénquima hepático entre los animales que recibieron solución salina fisiológica (A) y EGF (B). Nótese en el primer caso un foco de necrosis y la hemorragia adyacente. El panel medio indica la necrosis profunda que interesa las criptas en animales del grupo control (C) y la integridad mediada por el EGF (D). De forma similar, se muestra la hemorragia del intersticio en los controles (E) y la protección del parénquima renal en los animales tratados con EGF (F).

cinogénicas iniciadoras pueden transitar con mayor éxito hacia la tumorigénesis si son tratadas con EGF. También es muy conocido que en numerosos tipos de tumores epiteliales humanos el receptor del EGF está sobre-expresado y su sistema de señalización sobre-amplificado [18].

La primera intervención sistémica con EGF se realizó, hasta donde conocemos, en 1975, en casos que padecían el síndrome de Zollinger-Ellison. Otros procesos patológicos serios del sistema gastrointestinal también han sido tratados con EGF administrado por vía sistémica (ver revisión [19]). Estudios de este mismo corte se han continuado realizado en el mundo en los que el EGF ha sido administrado por vía sistémica [20]. Por su parte, los estudios clínicos más recientes fueron realizados por nuestro grupo, y en ellos el EGF se infiltró localmente en heridas recalcitrantes de pie diabético [21]. A lo largo de estos años no ha aparecido evidencia que indique que alguna de estas intervenciones terapéuticas repetidas realizadas con el EGF a concentraciones supra-fisiológicas, y por ninguna de las vías de administración que se han empleado, esté asociada a episodios de carcinogénesis en los pacientes.

Resulta obvio aclarar que la terapia con EGF o cualquier otro factor de crecimiento está obligato-

12. Caballero ME, Berlanga J, Ramirez D, Lopez-Saura P, González R, Floyd DN. Epidermal growth factor reduces multiorgan failure induced by thioacetamide. *Gut* 2001;48:34-40.

13. Berlanga-Acosta J, Playford RJ, Mandir N, Goodlad RA. Gastrointestinal cell proliferation and crypt fission are separate but complementary means of increasing tissue mass following infusion of epidermal growth factor in rats. *Gut* 2001;48:803-7.

14. Sasaki M, FitzGerald AJ, Mandir N, Berlanga-Acosta J, Goodlad RA. Keratinocyte growth factor and epidermal growth factor can reverse the intestinal atrophy associated with elemental diets in mice. *Exp Physiol* 2003;88:261-7.

15. Cibrian D, Ajamieh H, Berlanga J, Leon OS, Alba JS, Kim MJ, et al. Use of growth-hormone-releasing peptide-6 (GHRP-6) for the prevention of multiple organ failure. *Clin Sci (Lond)* 2006;110:563-73.

16. Berlanga J, Álvarez S, de la Fuente J, López-Saura P. Considerations on the transforming potential of epidermal growth factor. *Biotechnol Appl* 1998;(15):65-70.

17. Stoscheck CM, King LE. Role of Epidermal Growth Factor in carcinogenesis. *Cancer Res* 1986;46:1030-7.

riamente contraindicada en pacientes con tumores malignos o lesiones premalignas. La administración de EGF u otro factor de crecimiento deben realizarse siempre bajo una selección e inclusión cuidadosa de los pacientes basada en su historia personal y familiar, y sobre la base del análisis riesgo/beneficio. De hecho, esta regla se aplica en la práctica clínica para muchas drogas aprobadas e internacionalmente prescritas.

A continuación resumimos un grupo de evidencias biológicas y clínicas que contribuyen a sustentar el criterio del que el EGF no parece ser un iniciador de la transformación celular hacia la malignidad.

1. El EGF no es genotóxico ni mutagénico según los resultados de evaluaciones internacionalmente empleadas. No parece modificar la estabilidad genética [22].
2. Los sistemas preclínicos *in vitro* e *in vivo* indican una actividad promotora de tumores para el EGF en nichos celulares previamente *iniciados* con carcinógenos químicos o virales. La actividad promotora de tumores del EGF no ha sido siempre reproducida *in vivo* [23].
3. La administración exógena de EGF, TGF- α y otros factores de crecimiento ha demostrado no ser suficiente para inducir tumores. Se ha constatado en ratones transgénicos que la exposición indebida al EGF predispone al tejido diana al cáncer, y que el EGF puede ser necesario, pero no suficiente, para transformar células [24].
4. En otros modelos transgénicos de EGF, la sobreexposición al EGF fue asociada solo con retardo en el crecimiento somático o enanismo [25] y a una amplificación de la adaptabilidad de las células diana en expresión dirigida al intestino delgado [26].
5. Los cambios hiperplásicos mediados por el EGF tras la exposición exógena continua en modelos animales parece ser autolimitada. Los cambios tróficos (hipertrofias e hiperplasias) mediados por el EGF en modelos animales son reversibles y actúan en forma

dependiente de la dosis, la frecuencia, la especie y el sexo en los tejidos susceptibles [27-30].

6. Se conoce que el proceso de cicatrización se compone de un complejo entrecruzamiento de eventos tales como la migración, la diferenciación y la división celular, y esta es considerada una condición para la promoción del crecimiento de tumores [31]. No existen reportes, sin embargo, sobre inducción oncogénica en pacientes que debido a heridas hayan recibido EGF o cualquier otro factor de crecimiento de forma tópica. Por el contrario, la administración tópica de EGF ha mostrado efectos radioprotectores en pacientes con diagnóstico histológico de carcinoma de piel, sometidos a radioterapia [32].
7. Los perfiles farmacocinéticos y de biodistribución del EGF en modelos animales y en humanos documentan una corta vida media, con rápida eliminación y no acumulación, lo que excluye el concepto de activación continua/prolongada del receptor.

Conclusiones

En el campo académico nuestro Centro contribuyó a identificar nuevas propiedades farmacológicas inducibles tras la inyección de EGF. Estas vinieron a constituir modestas piezas de conocimiento y fundamentación de novedosas aplicaciones clínicas ulteriores. La integración de las enseñanzas derivadas de experimentos en los que por más de 10 años, centenas de animales fueron heridos o dañados; fraguaron con certeza la hipótesis del tratamiento infiltrativo con EGF para rescatar y regenerar tejidos en el pie diabético ulcerado. Si bien el perfil farmacológico del EGF es amplio, así es también su perfil de seguridad preclínica. Este factor de crecimiento, presente en los fluidos corporales desde la saliva hasta el semen y expresado desde el epéndimo hasta la piel, es hoy patrimonio de la ciencia cubana y se impondrá del sur al norte como ente capaz de prevenir minusvalías e inhabilidades. El tiempo dirá la última palabra.

18. Arteaga CL. Epidermal Growth Factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? *Oncologist* 2002;7(Suppl 4):31-9.

19. Guglietta A, Sullivan PB. Clinical applications of epidermal growth factor. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995;7:945-50.

20. Sullivan PB, Lewindon PJ, Cheng C, Lenehan PF, Kuo BS, Haskins JR, et al. Intestinal mucosa remodeling by recombinant human epidermal growth factor (1-48) in neonates with severe necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2007;42(3):462-9.

21. Fernández-Montequín JJ, Infante-Cristiá E, Valenzuela-Silva C, Franco-Pérez N, Savigne-Gutiérrez W, Artaza-Sanz H, et al. Intralesional injections of Citoprot-P (recombinant human epidermal growth factor) in advanced diabetic foot ulcers with risk of amputation. *Int Wound J* 2007;4(4):333-43.

22. Maraschin R, Bussi R, Conz A, Luciana O, Pirovano R, Nyska A. Toxicological evaluation of u-HEGF. *Toxicol Pathol* 1995;23(3):356-66.

23. Lu Xia, Yao-Zong Yuan, Chun-Di Xu, Yong-Pin Zhang, Ming-Ming Qiao, Jia-Xu Xu. Effects of epidermal growth factor on the growth of human gastric cancer cell and the implanted tumor of nude mice. *World J Gastroenterol* 2002;8(3):455-8.

24. Borlak J, Meier T, Halter R, Spanel R, Spanel-Borowski K. Epidermal growth factor-induced hepatocellular carcinomas: gene expression profiles in precursor lesions, early stage and solitary tumors. *Oncogene* 2005;24(11):1809-19.

25. Chan SY, Wong RWC. Expression of Epidermal Growth Factor in transgenic mice causes growth retardation. *J Biol Chem* 2000;275:38693-8.

26. Erwin CR, Helmrath MA, Shin CE, Falcone RA Jr, Stern LE, Warner BW. Intestinal overexpression of EGF in transgenic mice enhances adaptation after small bowel resection. *Am J Physiol* 1999;277(3 Pt 1):G533-40.

27. Vinter-Jensen L, Smerup M, Kissmeyer-Nielsen P, Poulsen SS. Chronic systemic treatment with epidermal growth factor in the rat increases the mucosal surface of the small intestine. *Regul Pept* 1995;60(2-3):117-24.

28. Vinter-Jensen L, Juhl CO, Poulsen SS, Djurhuus JC, Dajani EZ, Nexø E. Chronic administration of epidermal growth factor to pigs induce growth especially of the urinary tract with accumulation of epithelial glycoconjugates. *Lab Invest* 1995;73(6):788-93.

29. Juhl CO, Vinter-Jensen L, Poulsen SS, Orntoft RF, Dajani EZ. Chronic treatment with epidermal growth factor causes esophageal epithelial hyperplasia in pigs and rats. *Dig Dis Sci* 1995;40(12):2717-2723.

30. Christiansen JJ, Vinter-Jensen L, Nielsen K. Systemic treatment in the rat with epidermal growth factor causes polycystic growth of ovaries. *APMS* 1996;104:147-52.

31. Berlanga-Acosta J, Gavilondo-Cowley J, López-Saura P, González-López T, Castro-Santana M, et al. Epidermal Growth Factor (EGF) in clinical practice- A review of its biological actions, clinical indications and safety implications. *Int Wound J* 2009;6:331-46.

32. Alert J, Rodríguez J, Lombardero J, Pérez R. Acción radioprotectora local del factor de crecimiento epidérmico humano recombinante: reporte preliminar. *Interferón Biotecnol* 1989;6:62-6.

Recibido en julio de 2009. Aprobado en noviembre de 2009.