

Miomatose Uterina – Papel do IGF-I e seu Receptor

Eunice Beatriz Martin Chaves
Helena von Eye Corleta
Guilherme Kirgner Toscani
Edison Capp

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Introdução

Os miomas ou leiomiomas – tumores de células do músculo liso uterino – são os tumores mais comuns do trato genital feminino e acometem 20 a 30% das mulheres em idade reprodutiva, chegando a uma incidência de aproximadamente 50%, se considerarmos apenas as mulheres de raça negra (Sharara, 1995). Em um levantamento realizado entre 1988 e 1990, os miomas foram responsáveis por 1/3 das 1,7 milhões de histerectomias realizadas nos Estados Unidos da América (Sharara, 1995). Além disso, os miomas causam uma série de sintomas desagradáveis como: sangramento anormal, desconforto pélvico, abortamento espontâneo, aumento da frequência urinária e constipação.

Estes tumores são benignos e surgem no miométrio contendo quantidade variável de tecido conectivo fibroso. Nenhum gene específico foi identificado como responsável pelo surgimento dos miomas. Estudos cromossômicos, no entanto, mostram aberrações citogenéticas heterogêneas, sendo cinco as mais frequentes: translocação específica entre os cromossomas 12 e 14, trissomia do 12, deleção do cromossoma 7 e rearranjo envolvendo o braço longo do cromossoma 12 e o braço curto do 6. Assim múltiplos loci gênicos parecem envolvidos (Nowak, 1997).

O fato dos miomas aparecerem durante a fase reprodutiva, aumentarem durante a gestação e regredirem após a menopausa sugere sua dependência dos hormônios ovarianos (Otubu,

1982; Giudice, 1993; Strawn, 1995). Os análogos do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), os quais reduzem a concentração sérica de estrogênio e progesterona, como visto na menopausa, têm sido usados como a terapia medicamentosa para diminuir os miomas pré-cirurgicamente. No entanto, estes tratamentos não são adequados a longo prazo, devido ao grande número de efeitos colaterais, como por exemplo, diminuição da massa óssea (Stewart, 1992).

A administração exógena de progesterona com análogos do GnRH resultam em redução muito menor do volume dos miomas, comparado-se ao tratamento isolado com análogos. Isto sugere que a progesterona também possa exercer efeito na promoção do crescimento dos miomas (Nowak, 1997).

Embora não tenha sido encontrada diferença entre a concentração sérica de estrogênio na mulher com mioma e sem mioma, sua concentração é maior nos miomas do que no miométrio vizinho (Otubu, 1982). Isto provavelmente se deva a diminuição do metabolismo do estradiol a estrona, causado por uma menor quantidade de 17 α -hidroxi-desidrogenase nestes tumores do que no miométrio (Otubu, 1982). Além disto, a concentração de receptores de estradiol é maior em miomas do que em miométrio (Rein, 1990). Se o estradiol age diretamente sobre a proliferação celular dos miomas ou via mediadores como os fatores de crescimento não está bem determinado. Vários fatores de crescimento são potentes mitógenos e, o IGF-I (*insulin-like growth factor - I*), particularmente, tem sido apontado como media-

dor do estradiol em ratos e úteros humanos (Chandrasekhar, 1992).

Há crescentes evidências de que a insulina, o IGF-I e seus receptores estejam envolvidos na transformação tumoral de tecidos hormônio-dependentes (mama e trato gastrointestinal), e de tecidos não hormônio-dependentes (cérebro, medula, rins). O fato de que muitos tumores renais contêm quantidades aumentadas de glicogênio, fosfolípidios e triglicerídios sugere o envolvimento da insulina e/ou IGF-I no carcinoma renal (Kellerer, 1995). Estas observações indicam que os IGFs podem ter importante papel na tumorigênese.

Embora os miomas representem significativo problema de saúde pública para as mulheres, os mecanismos envolvidos na gênese destes tumores são pouco entendidos. Esta revisão apresenta o que se conhece da relação entre os miomas e o IGF-I.

IGF-I

O IGF-I é um hormônio peptídico ou fator de crescimento que apresenta homologia na maioria de seus aminoácidos com a insulina e o IGF-II (Chandrasekhar, 1992; Roith, 1997). Seu peso molecular é de 7649 Daltons (Wang, 1999). Os IGFs são formados por 70 aminoácidos, são sintetizados no fígado, retêm o peptídeo C e têm um carbono terminal (Chandrasekhar, 1992; Roith, 1997). Os IGFs circulam em concentrações nanomolares, largamente ligados a uma de seis proteínas de ligação que modulam as suas atividades (Roith, 1977). O gene do IGF-I humano consiste em pelo menos 5 exons, os quais são localizados dentro de uma região de 90 quilobases, no cromossoma 12. Há 2 percursos de RNAm para IGF-I, os quais diferem na parte carboxi-terminal. No entanto, o IGF-I derivado de ambos percursos são idênticos (Gloude-mans, 1990).

Ambos IGFs são essenciais no desenvolvimento embrionário e mantêm a concentração nanomolar na vida adulta. Após o nascimento o IGF-I parece ter papel, predominantemente, regulador do crescimento (Roith, 1997). A interação do hormônio do crescimento (GH) com seu receptor hepático estimula a expressão do gen de IGF-I e a liberação do IGF-I. Assim a concentração de IGF-I usualmente é semelhante a do GH durante as 24 horas do dia, por sua vez o IGF-I inibe a secreção do GH pela hipófise (Roith, 1997). O GH, o hormônio da paratireóide e os esteróides sexuais regulam a produção de IGF-I nos ossos, ao passo que os esteróides sexuais são os principais reguladores do IGF-I no sistema reprodutor.

Proteínas de Ligação dos IGFs

As proteínas de ligação dos IGFs (IGFBP) assim como os IGFs são sintetizados primeiramente no fígado, mas também localmente pela maioria dos tecidos, onde eles agem de maneira autócrina ou parácrina. As proteínas de ligação dos IGFs são capazes de modular a proliferação celular induzida pelo IGF tanto de maneira positiva quanto negativa. Assim a circulação das proteínas de ligação podem limitar ou facilitar o acesso dos IGFs a tecidos específicos e para os receptores de IGF-I e Insulina. Das seis proteínas de ligação, a proteína 3 de ligação do IGF liga mais de 95% dos IGFs séricos (Roith, 1997). Como a proteína 3 de ligação do IGF-I apresenta peso molecular de 150kDa, complexos formados por ela não cruzam a barreira capilar ficando retidos na circulação (Wang, 1999). Dependendo da concentração de proteína 3 de ligação do IGF seu efeito poderá ser de estímulo ou inibição do crescimento induzido pelo IGF-I (Van Der Ven, 1996).

O IGF-I e a proteína 3 de ligação do IGF-I formam um complexo com outra subunidade protéica, a subunidade ácido-lábil. Neste complexo ternário os IGFs têm meia-vida de muitas horas. Uma vez liberados do complexo, os IGFs deixam a circulação e entram nas células-alvo com a ajuda de outra proteína de ligação (Roith, 1997). O GH aumenta a concentração sérica de ambos, subunidade ácido-lábil e proteína 3 de ligação do IGF (Roith, 1997; Rajaram, 1997).

O GH, a progesterona e a insulina regulam a síntese da IGFBP-I. Na fase folicular do ciclo menstrual o crescimento endometrial é promovido pelo estradiol via IGF-I, o qual por sua vez estimula a proliferação celular do endométrio. Na fase lútea a progesterona estimula o endométrio a secretar IGFBP-I a qual promove a diferenciação endometrial e modula a ação do IGF-I. Embora a circulação de IGFBP-I diminua na fase lútea um aumento na produção local a nível de endométrio tem sido observado quando a concentração de progesterona está elevada. Wang (2000) demonstrou por RT-PCR que o RNAm da IGFBP-I se expressa na pós-menopausa somente naquelas pacientes que recebem terapia de reposição combinada (Premarin 0,625 mg/dia + medroxiprogesterona 5 mg/dia).

Várias proteínas de ligação dos IGFs, incluindo a 1, 2, 4 e 6 inibem a ação do IGF ligando-se a ele e impedindo a sua ligação ao seu receptor. A proteína de ligação 1 quando fosforilada inibe a ação do IGF, em contraste, sua forma não fosforilada potencializa a ação do IGF-I na síntese de DNA em células do músculo liso animal (Rajaram, 1997).

Assim a mesma proteína de ligação do IGF pode exercer diferentes efeitos sob condições diversas. Ao contrário das demais proteínas de ligação do IGF, a 5 tem efeito positivo para uma variedade de células (Rajaram, 1997).

Algumas proteínas de ligação do IGF ligam-se aos fatores de crescimento com maior afinidade do que os receptores de IGF, evitando assim a ativação de mecanismos intracelulares. A afinidade destas proteínas de ligação aos IGFs pode ser reduzida pela quebra da protease ou aumento da fosforilação da proteína de ligação, ou pela ligação das proteínas a superfície das células mais do que na matriz extracelular. Embora muitas proteínas de ligação do IGF-I sejam capazes de interagir com a superfície da membrana celular, não há evidências de que estes sítios de ligação exerçam função de transdução de sinal (Murphy, 1998). A afinidade reduzida aumenta a atividade biológica dos IGFs pelo aumento da quantidade de fatores de crescimento livres, disponíveis para os receptores de IGF-I.

proteínas celulares nos sítios de tirosina transmite o sinal para o sistema efetor das células-alvo (Capp, 1996) estimulando o crescimento.

Figura 1 – Modelo do receptor de IGF-I

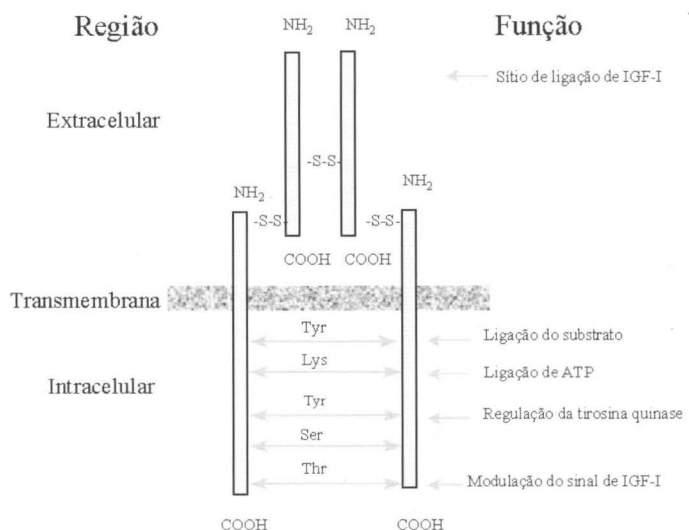


Figura 1 - O receptor de IGF-I é uma proteína transmembrana, que mantém sua estrutura através de pontes de enxofre. A subunidade α é onde se liga o IGF-I. O sinal é então transmitido à subunidade β , que possui uma porção extracelular, transmembrana e intracelular. Alguns aminoácidos na subunidade β têm função já definida. Sítios de tirosina são necessários para ativação da tirosina quinase. Lisina é o sítio de ligação de ATP. Alguns resíduos de tirosina estão relacionados com a ligação do substrato do receptor (IRS 1). Resíduos de serina e treonina podem estar relacionados com a modulação da transmissão do sinal.

Receptor de IGF-I

Os receptores de IGF-I são glicoproteínas heterotetraméricas, com duas subunidades alfa (135 kD) e duas subunidades beta (90-105 kD) (Capp, 1996). A subunidade α é exclusivamente extracelular, ao passo que a subunidade β apresenta uma porção extracelular glicosilada, uma transmembrana e uma região intracelular (Figura 1). As subunidades α e β são ligadas por pontes dissulfeto. A atividade tirosinaquinase intrínseca deste receptor se localiza na parte citoplasmática da subunidade β . Esta parte revela-se muito semelhante, aproximadamente 80%, com o receptor de insulina. Os receptores de insulina e IGF-I tem potencial de formar um receptor híbrido heterotetramérico. Este receptor híbrido tem capacidade de se ligar a insulina e ao IGF-I com alta afinidade. (Kellerer, 1995). No entanto, vários grupos sugerem que o receptor híbrido é mais responsivo ao estímulo de IGF-I do que da insulina e assim exibiria propriedades funcionais predominantemente de um receptor de IGF-I.

Transdução do Sinal de IGF-I

A ligação dos IGFs à subunidade α do receptor estimula a atividade quinase na subunidade β (Kellerer, 1995). Esta apresenta uma atividade quinase intrínseca e por meio da fosforilação das

A ativação do receptor de insulina e de IGF-I evoca respostas similares dentro da célula, no entanto, como a insulina regula a função metabólica (Capp, 1998) e os IGFs regulam o crescimento e diferentes funções a rota final que estes hormônios ativam dentro da célula devem ser separadas e distintas (Roith, 1997).

IGF-I e Miomas

O mecanismo pelo qual o receptor de IGF-I medeia a formação e o crescimento tumoral permanece incerto. No entanto, há evidências de que a ativação dos receptores dos fatores de crescimento seja mecanismo pelo qual os genes supressores tumorais e oncogenes modulam a proliferação celular e conseqüentemente a formação e/ou o crescimento dos tumores (Blaskeley, 1997). A expressão aumentada de receptores de IGF-I funcionais são suficientes, não somente para aumentar a proliferação celular, mas também a sua transformação (Blaskeley, 1997). Este potencial de crescimento tumoral não é conferido a células com expressão aumentada de receptores de IGF-I defi-

cientes, nos quais aminoácidos específicos sofreram mutações. Além disto, partes específicas do C-terminal do IGF-I têm se mostrado essenciais na mediação do sinal de transformação. Desta forma, é especulado como terapêutica futura uma alteração específica do receptor de IGF-I na transdução do sinal como agente antitumoral efetivo (Blaskeley, 1997).

Estudos recentes têm mostrado que o leiomioma mostra resposta proliferativa aumentada ao IGF-I *in vitro* comparado ao miométrio normal. Esta resposta é atribuída ao fato do leiomioma expressar níveis mais elevados do receptor de IGF-I (Strawn, 1995). Isto sugere que os IGFs possam exercer importante papel no crescimento e transformação destes tumores (Van der Ven, 1997).

A expressão do gene de IGF-I no leiomioma parece ser estrógeno-dependente. Sua expressão é maior durante a fase proliferativa e diminui durante a fase secretora, sendo indetectável em pacientes tratadas com agonistas do GnRH (Giudice, 1993). Ao contrário, a expressão do receptor de IGF-I não parece ser regulada pelo estrogênio e está aumentado nos miomas em relação ao miométrio adjacente (Giudice, 1993; Tommola, 1989). Os agonistas do GnRH podem agir por meio da diminuição dos níveis de estradiol e assim alterar a produção de IGF-I no local, sem mudar os níveis de receptores. Os níveis plasmáticos de GH e IGF-I diminuem significativamente após o tratamento com os agonistas do GnRH, provavelmente como resultado do estado hipoestrogênico induzido por estes agonistas. Se isto contribui para diminuição dos leiomiomas ainda não é sabido. Sharara demonstrou que a expressão do RNAm do receptor do GH foi similar em ambos, miomas e miométrio, não sendo alterado pelo tratamento com agonistas do GnRH, sugerindo que o receptor de GH não seja regulado pelo estrogênio (Sharara, 1995).

A alta afinidade dos receptores de IGF-I tem sido identificada nas membranas uterinas usando métodos com material radioativo (Chandrasekhar, 1992). Estudos mostram que a maior parte do IGF-I marcado se liga às células musculares do miométrio. Assim, estes estudos mostram que, ambos, IGF-I e seus receptores são mais abundantes no miométrio, sendo sugerido que o IGF-I aja no músculo liso do miométrio como um fator de crescimento autócrino e parácrino (Tommola, 1989; Chandrasekhar, 1992).

Estudos *in vitro* usando cultura de células miometriais e reação de polimerase em cadeia com transcriptase reversa têm confirmado que o IGF-I é um mitógeno para estas células, particu-

larmente em combinação com o EGF -*Epidermal growth factor*-, com o PDGF -*Platelet-derived growth factor*- e o TGF α -*Transforming growth factor*- α (Vollenhoven, 1995).

Tanto o miométrio normal quanto o leiomioma expressam RNAs para o IGF-I e o IGF-II. Outros estudos sugerem que os níveis de IGF-I RNAm são similares em ambos os tecidos, no entanto, estão suprimidos no leiomiossarcoma, tumor maligno (Gloude-mans, 1990). Ao contrário, os níveis de IGF-II RNAm são consistentemente mais elevados em leiomiossarcomas do que no tecido miometrial normal. (Gloude-mans, 1990). Enquanto os tumores benignos contêm uma quantidade substancialmente mais elevada de tecido conectivo, os tumores malignos de músculo liso contêm quase exclusivamente células de músculo liso. A observação de que o gene de IGF-I é suprimido com o aumento da malignidade poderia indicar que a expressão do IGF-I se desse no tecido conectivo do miométrio ao invés das células de músculo liso. Entretanto estudos imuno-histoquímicos mostram que o IGF-I se apresenta exclusivamente nas células do músculo liso e não no tecido conectivo (Gloude-mans, 1990).

A secreção de IGF-I e IGF-II pelos miomas obtidos de mulheres tratadas com agonista do GnRH, no estudo de Rein e colaboradores, foi significativamente menor do que dos tecidos obtidos de mulheres do grupo controle que receberam somente placebo (Rein, 1990), o mesmo acontecendo em relação a secreção de IGF-I e IGF-II em nível de miométrio, a qual se encontra diminuída nas amostras daquelas mulheres submetidas ao tratamento com agonista do GnRH em relação ao placebo. Isto sugere que a regressão dos miomas uterinos a qual esta associada com a administração crônica de agonista do GnRH poderia ser regulada em parte pela diminuição da concentração local de IGF-I e IGF-II (Rein, 1990).

Considerações Finais

O IGF-I parece estar envolvido com o surgimento dos miomas, no entanto, seu real papel na gênese e crescimento dos mesmos ainda não está claro. Mais estudos que avaliem a presença e a função do IGF-I, de seu receptor e das proteínas de ligação para IGF nestes tumores devem ser realizados.

Leituras Suplementares

1. Blakesley V A, Stannard B S, Kalebic T. Role of IGF I receptor in mutagenesis and tumor promotion. *Endocrinol* 1997; 152:339-44.
2. Capp E, Brandelli A, Monego H. Binding and tyrosine kinase activity of insulin receptor in human normal and neoplastic endometrium. *Med Scien Res* 1996; 24:621-3.
3. Capp E, Corleta H. Transdução do sinal de insulina e Diabetes mellitus tipo II. *Pesq Méd* 1998; 32:24-31.
4. Chandrasekhar Y, Heiner J, Osuamkpe M S, Nagamani M. Insulin-like growth factor I and II binding in human myometrium and leiomyomas. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166:64-9.
5. Dawood M Y, Dawood F S K. Plasma insulin-like growth factor-I, CA-125, estrogen and progesterone in women with leiomyomas. *Fertili Steril* 1994; 61:617-21.
6. Giudice L C, Irwin J C, Dsupin B A. Insulin-like growth factor (IGF), IGF binding protein (IGFBP), and IGF receptor gene expression and IGFBP synthesis in human uterine leiomyomata. *Hum Reprod* 1993; 8:1796-1806.
7. Gludemans J, Prinsen I, Van Unrik JA, Lips CJ, Den Otter W, Sussenbach JS. Insulin-like growth factor gene expression in human smooth muscle tumors. *Cancer Res* 1990; 50: 6689-95.
8. Kellerer M, Corleta H, Mühlhofer A. Insulin and insulin like growth factor-I receptor tyrosine kinase activities in human renal carcinoma. *Int J Cancer* 1995; 62:501-7.
9. Murphy LJ. Insulin-like growth factor-binding proteins: functional diversity or redundancy? *Mol Endocrinol* 1998; 21:97-107.
10. Novak R A. Effects of growth factors on leiomiomas. In: Osteen K Diamond M, editors. *Endometrium and Endometriosis*. Malden, M.A.: Blackwell Science; 1997. p. 301-10.
11. Rajaram S, Baulink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 1997; 18:801-31.
12. Roith D L. Insulin-like growth factors, *N Engl J Med* 1997; 336:633-40.
13. Sharara F I, Nieman L K. Growth hormone messenger ribonucleic acid expression in leiomyoma and surrounding myometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:814-19.
14. Strawn EY Jr, Novy MJ, Burry KA, Bethea CL. Insulin-like growth factor I promotes leiomyoma cell growth in vitro *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1837-44.
15. Stewart E A, Friedman A J. Steroidal treatment of myomas: preoperative and long term medical therapy. *Semin Reprod Endocrinol* 1992; 10:344-57.
16. Van Der Vem, LI, Van Buul-Offers SC, Gludemans T, Roboll RJ Sussenbach IS, offer w. Modulation of insulin-like growth factor (IGF) action by IGF-binding proteins in normal, benign and malignant smooth muscle tissues. *J. Clinic Endocrinol Metab* 1996; 81:3629-35.
17. Vollenhoven BJ, Herington AC, Healy DL. Epidermal growth factor and transforming growth factor-a in uterine fibroids and myometrium. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40:120-4.
18. Wang HS, Chard T. IGFs and IGF-binding proteins in the regulation of human ovarian and endometrial function. *J Endocrinol* 1999; 161:1-13.
19. Wang H S, Wang TH Soong YK. Elevation of insulin-like growth factor-binding protein-1 mRNA expression following hormone replacement therapy. *Hum Reprod* 2000; 15:50-4.