

SIGNIFICADO BIOLÓGICO DEL EJE HORMONA DE CRECIMIENTO (GH) / FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA (IGF)

por

Myriam Sánchez de Gómez¹

Resumen

Sánchez de Gómez, M.: Significado biológico del eje hormona de crecimiento (GH) / factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). Rev. Acad. Colomb. Cienc. **30** (114): 101-108. 2006. ISSN 0370-3908.

La hormona de crecimiento (GH) y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I, IGF-II) regulan el crecimiento, diferenciación, metabolismo y expresión génica en múltiples tipos celulares, a través de mecanismos autocrinos y/o paracrinos, además del clásico endocrino. Se presenta un resumen de los resultados más significativos obtenidos por el autor y su grupo de investigación sobre los mecanismos moleculares de acción del eje GH/IGF con implicaciones en dos aspectos en particular. En primer lugar, su función como inmunomodulador del estrés nutricional en células linfoides y en segundo término, su papel en el desarrollo de la enfermedad trofoblástica gestacional.

Palabras clave: GH, IGF-I, IGF-II, linfocitos, enfermedad trofoblástica gestacional.

Abstract

The growth hormone (GH) and insulin-like growth factors (IGF-I, IGF-II) regulate the growth, differentiation, metabolism and gene expression in a variety of tissues and cell types, through autocrine and/or paracrine mechanisms, in addition to the classic endocrine mode of action. This summary describes the most relevant results obtained by the author and her research group on the molecular mechanisms of action of the GH/IGF axis with implications in two aspects in particular. Firstly, its function as immunomodulator of nutritional stress in lymphoid cells and secondly, its role in the development of the gestational trophoblastic disease.

Key words: GH, IGF-I, IGF-II, lymphocytes, gestational trophoblastic disease.

¹ Profesora Asociada. Investigadora principal grupo de investigación en Hormonas, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: mysanchezd@unal.edu.co

Introducción

La interacción entre diferentes sistemas celulares es esencial para la supervivencia de todas las especies, siendo por lo tanto de importancia crucial la alta coordinación entre todos los estímulos y señales externas para mantener el equilibrio y alcanzar una respuesta celular óptima. El sistema endocrino tiene como función integrar y coordinar los diferentes grupos celulares de un organismo. Regula y controla diferentes procesos tales como crecimiento, metabolismo, reproducción y homeostasis entre otros. Los mensajeros del sistema endocrino son hormonas y factores de crecimiento que pueden actuar localmente o ser exportados a la circulación y transportados a sus órganos blanco.

La hormona de crecimiento (GH) y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II) constituyen un eje conocido tradicionalmente por sus acciones promotoras del crecimiento somático en vertebrados. Sin embargo, un cúmulo de evidencias experimentales da soporte a un amplio rango de acciones en múltiples tipos celulares, con implicaciones en crecimiento, diferenciación, metabolismo y expresión génica. La expresión de los ligandos y sus receptores en diversos tejidos sugiere una acción local del eje GH/IGF a través de un mecanismo autocrino y/o paracrino, además del clásico endocrino. En este último contexto, el eje hormonal tiene un papel potencial en las alteraciones que acompañan estados patológicos como tumores y cáncer.

El propósito de este artículo es presentar un resumen de los resultados más significativos obtenidos en el grupo de investigación en Hormonas del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia dirigido por la autora de esta publicación. La investigación se ha centrado en el estudio de los mecanismos moleculares de acción celular del eje GH/IGF, en dos aspectos particulares. En primer término, se discute su papel en células linfoides y su función en la homeostasis y modulación del estrés inducido por desnutrición. En segundo lugar, se presentan los resultados obtenidos en el estudio del papel potencial del eje hormonal en el desarrollo de la Mola Hidatidiforme o enfermedad trofoblástica gestacional (ETG).

Acciones anabólicas del eje GH/IGF-I endocrino vs. autocrino/paracrino

La Hipótesis de la Somatomedina propuesta treinta años atrás para explicar las acciones complementarias de GH e IGF-I en el crecimiento postnatal comprende dos aspectos centrales: Primero, que la acción de la GH en el

crecimiento somático depende del factor endocrino IGF-I, y segundo, que el IGF-I proviene principalmente del hígado. La primera parte fue demostrada con los experimentos clásicos de **Daughaday** (1972) y es hoy día ampliamente aceptada. Con respecto a la segunda parte, su comprobación ha sido más difícil aunque existen varias evidencias que la apoyan.

El descubrimiento en 1980 de que el IGF-I era expresado localmente por una variedad de tejidos sugirió que el IGF-I podría tener un efecto paracrino/autocrino (**Ercole, Applewhite, Underwood**, 1980). El estudio de la expresión del gen *Igf-1* reveló que éste era expresado en múltiples tejidos a lo largo del desarrollo embrionario, postnatal y durante la vida adulta. Esta amplia expresión y distribución del IGF-I en la ontogénesis dió soporte al concepto de que el IGF-I tiene un papel importante en la regulación del crecimiento en múltiples tejidos y células de una forma paracrina o autocrina (**Roberts, Lasky, Lowe, Reaman, LeRoith**, 1987).

El estudio de la expresión de IGF-I en tejidos extra-hepáticos de rata y murino ha demostrado su regulación por GH y factores externos como la disponibilidad de nutrientes. La ingesta de dos dietas isocalóricas con diferente contenido de proteína (20% y 8%) mostró que la restricción proteica disminuye la concentración de IGF-I en la circulación y la expresión del gen *Igf-1* en músculo. El tratamiento con GH incrementó el balance de nitrógeno pero no restauró los niveles circulantes de IGF-I, implicando que el IGF-I circulante no es un mediador de los efectos anabólicos de GH sobre las proteínas (**Sánchez-Gómez, Malmjöf, Mejía, Bermúdez, Ochoa, Carrasco-Rodríguez, Skottner**, 1999). Encontramos una correlación entre la reducción de los niveles de IGF-I en la circulación y la disminución en la transcripción de IGF-I en el hígado de ratas desnutridas (**Carrasco-Rodríguez**, 2000), en contraste, en órganos linfoides como el bazo, los niveles de mensajero permanecieron iguales, sugiriendo un mecanismo diferencial de regulación en células linfoides (**Mejía-Naranjo**, 2003). Dado que la síntesis del IGF-I hepático y de algunos tejidos extra-hepáticos como el músculo son dependientes de GH, este tipo de estudios no permiten distinguir entre el papel del IGF-I circulante y las formas autocrinas/paracrinas del IGF-I.

La estrategia para inactivar genes en un tejido representa una herramienta muy útil para el estudio y función de genes específicos en un organismo. El modelo *in vivo* de ratones con silenciamiento específico del gen *Igf-1* hepático (Liver-specific *IGF-1* gene deficient mice, LID mice) creado por el Dr. Derek LeRoith y colaboradores en el NIDDK (NIH, USA) mediante el sistema Cre-loxP

(**Yakar, Liu, Stannard, Butler, Accili, Sauer, LeRoith, 1999**), constituye un modelo único para examinar los efectos locales del eje hormonal. Los ratones LID tienen niveles circulantes de IGF-I que corresponden a un 25% del de los controles, en tanto que los niveles de GH muestran un incremento de aproximadamente 4 veces, presumiblemente debido a la disminución en el control de "feedback" negativo del IGF-I circulante sobre la secreción de GH por la hipófisis (**Liu & LeRoith, 1999**). Los parámetros de crecimiento tales como longitud del cuerpo, longitud femoral, peso de órganos y peso corporal no mostraron ninguna diferencia al compararlos con sus respectivos controles silvestres; la única excepción fue el bazo, el cual mostró una reducción en el tamaño. La maduración sexual fue normal demostrada por una fertilidad, tamaño de camadas y lactación similar a la de los controles. Lo anterior permite concluir que la producción hepática de IGF-I es la principal fuente del péptido circulante, pero que éste no es esencial para el crecimiento postnatal y el desarrollo (**LeRoith, Bondy, Yakar, Liu, Butler, 2001**).

En estudios en colaboración con el NIH empleando el modelo LID, se abordó el estudio del papel paracrino/autocrino del eje en ausencia de la secreción endocrina, buscando además clarificar los efectos de la restricción en la proteína dietaria sobre el eje local GH/IGF-I, teniendo en cuenta que la regulación nutricional conocida hasta ahora era sobre el eje endocrino. Los ratones LID fueron alimentados con cuatro dietas isocalóricas de diferente contenido proteico (20, 12, 4 y 0%) por un período de 10 días. Las dietas de bajo contenido de proteína disminuyeron la secreción de IGF-I no hepático, mientras que los niveles séricos de GH se incrementaron, sugiriendo que el IGF-I producido por tejidos diferentes al hígado también contribuye con los niveles de IGF-I en la circulación. Estos resultados permitieron demostrar que la nutrición también regula la secreción local de IGF-I y da fuerza a la hipótesis de que el IGF-I de origen local puede ser un mediador de los efectos promotores de crecimiento del IGF-I (**Mejía-Naranjo, Yakar, Sánchez-Gómez, Umaña, Setter, LeRoith, 2002**).

La condición de exposición crónica a GH que caracteriza a los animales LID semeja la condición fisiológica prevalente en humanos desnutridos, conocida como resistencia a la GH. Dentro de los mecanismos subyacentes de inducción de estados de resistencia figuran cambios a nivel del receptor de GH y fenómenos post-receptor. Nosotros examinamos la señalización intracelular del receptor de GH en el hígado de ratones LID restringidos nutricionalmente en proteína y la posible asociación en-

tre resistencia hormonal y alteraciones en la vía de transducción de la señal. Los animales transgénicos mostraron activación de la vía por fosforilación en residuos de tirosina de las proteínas JAK2/STAT5 estimulada por GH, aunque la inducción esperada del receptor de GH no se observó en los animales LID. La familia de proteínas supresoras de la señalización por citoquinas (SOCS) representan uno de los mecanismos de regulación negativa de la señal mediada por GH. En este estudio encontramos alteraciones en la expresión de las proteínas SOCS2 y SOCS3 bajo restricción nutricional, lo cual es consistente con la existencia de alteraciones en la señalización de la hormona corriente abajo del receptor GHR en estados de restricción nutricional (**Umaña, Yakar, LeRoith, Sánchez-Gómez, 2002**).

Alteraciones en la activación de la vía JAK2 y STAT5 en hígado se han señalado en casos de ayuno (**Beauloye, Willems, de Coninck, Frank, Edery, Thissen, 2002**) y recientemente lo demostramos en tejido muscular (**Calderón, Umaña, Sánchez-Gómez, 2004**) y linfocitos de bazo (**Garzón, 2004**) de ratas con restricción en la proteína dietaria. El papel de estas alteraciones en la disminución de la producción de IGF-I en el hígado está apoyada en varias observaciones, tales como la incapacidad de la GH exógena para restaurar los niveles de IGF-I circulantes en animales malnutridos (**Sánchez-Gómez, Malmlöf, Mejía, Bermúdez, Ochoa, Carrasco-Rodríguez, Skottner, 1999**) y la reducción en los niveles de IGF-I con el envejecimiento que correlacionan con un menor grado de fosforilación en JAK2 (**Xu, X., S.A. Bennett, R.L. Ingram, W.E. Sonntag, 1995**). Recientemente se demostró que la activación de la proteína STAT5 está involucrada en la activación del gen IGF-I (**Wang & Jiang, 2005**).

El descenso observado en la activación de JAK2-STAT5 por GH constituye un mecanismo potencial para explicar la resistencia a la GH en malnutrición, además de la sobre-expresión de la proteína inhibidora de la señalización SOCS-3 en el hígado de ratas malnutridas (**Umaña, Carrasco, Sánchez, 2003**). Teniendo en cuenta estos resultados y recordando que el IGF-I extra-hepático también se encuentra regulado por el estado nutricional, resulta plausible suponer que los cambios en la secreción local del péptido cuando hay déficit en la ingesta de nutrientes, pueden involucrar alteraciones en la señalización JAK2-STAT5-SOCS activada por el receptor de GH. La dilucidación del papel de las proteínas SOCS en la señalización de GH es la base para el entendimiento de la forma como los tejidos regulan la sensibilidad a la acción de GH y por ende para la comprensión de síndromes de resistencia como desnutrición, obesidad y diabetes.

Papel inmunomodulador del eje GH/IGF-I

El sistema inmune y el sistema endocrino comparten un conjunto común de ligandos y receptores. Las células del sistema inmune secretan moléculas y poseen receptores para una gran cantidad de hormonas y factores de crecimiento. De igual forma, citoquinas como los interferones, aunque derivados de células inmunocompetentes, también tienen efectos hormonales en una gran variedad de órganos. Esta observación sirve de base para ampliar el conocimiento bioquímico de cómo y por qué hay una comunicación bidireccional entre los sistemas inmune y endocrino. Un gran cúmulo de evidencias sugiere que la GH, el IGF-I y sus receptores cumplen un papel importante regulando el desarrollo y la función inmune en forma concertada con otras citoquinas (**Mejía-Naranjo, Sánchez-Gómez, LeRoith, 2002**).

La producción de GH en órganos linfoides fue demostrada por primera vez en 1988 (**Weigent, Baxter, Wear, Smith, Bost, Blalock, 1988**). Posteriormente mediante hibridización *in situ* y RT-PCR, se demostró la presencia de transcritos de GH en el bazo, nódulos linfáticos y timo (**Delhase, Vergani, Malur, Hooge-Peters, Hooge, 1993; Caminos, 1995**) y su traducción a la forma de GH inmunorreactiva con un peso molecular similar al de la hormona de pituitaria (**Weigent, 1991**). El receptor para GH ha sido determinado y caracterizado en órganos linfoides, así como en la línea celular de origen linfoblastoide IM-9, encontrándose que es idéntico al receptor de GH hepático. Los análisis por citofluorimetría han sido usados para la determinación de receptores en la membrana celular de células linfoides humanas y murinas, lo cual ha permitido determinar que la expresión del receptor para GH es mayor en linfocitos B, que en linfocitos T (**Mejía-Naranjo, Sánchez-Gómez, LeRoith, 2002**).

En un estudio reciente en rata (**Mejía-Naranjo & Sánchez-Gómez, 2004**) se determinaron los principales subtipos celulares linfoides que son blanco de la acción de la hormona de crecimiento y el efecto del estrés nutricional en la distribución relativa de las células linfoides positivas para el receptor de GH. Mediante citometría de flujo se encontró que el patrón de expresión de GHR varía con el tejido y tipo celular linfoide. De acuerdo con observaciones anteriores (**Bermúdez, 1994; Carrasco-Rodríguez, 2000**), el bazo resultó ser el órgano más sensible al déficit de proteína, pero además mostró un incremento del 12% al 52% en el número de células B positivas para GHR y del 8% al 17% en células CD4+ positivas para GHR. El incremento en los sitios receptores para GH en linfocitos bajo estrés catabólico inducido

por la restricción en proteína, apoya la hipótesis de un papel modulador del eje GH/IGF-I en la preservación de la homeostasis del sistema inmune.

Receptores para IGF-I han sido identificados en tejido linfoide, usando técnicas de radio-ligando y citometría de flujo. La co-localización del receptor tipo I (IGF-IR) con marcadores específicos de linfocitos ha mostrado que el IGF-I está presente principalmente en monocitos y linfocitos B y muy escaso en linfocitos T (**Xu, Mardell, Xian, Zola, Read, 1995**). Dado que las células linfoides tienen la capacidad de sintetizar y secretar IGF-I, se sugiere que las células del sistema inmune pueden estar expuestas a: 1) el IGF-I endocrino de la circulación; 2) el propio IGF-I sintetizado (paracrino/autocrino); y 3) posiblemente una tercera fuente derivado de las células epiteliales y estromales en los órganos linfoides y médula ósea.

Mediante citometría de flujo y ensayos de protección con ribonucleasa, se pudo demostrar que la carencia de proteína en la dieta es un factor estimulador de la expresión de receptores para GH e IGF-I en el bazo de ratones LID, que carecen de la secreción endocrina de IGF-I. Los mayores cambios se observaron en linfocitos B, con lo que presumiblemente estas células serían las responsables de la sobre-estimulación del eje GH/IGF-I. Así mismo, los niveles del mensajero de la principal proteína de unión a IGF, IGFBP-3, medidos por Northern blot resultaron elevados en los animales restringidos nutricionalmente, lo que sugiere un incremento en la rata de formación de los complejos con el IGF-I circulante o producido localmente. Estos resultados, en resumen, apoyan la hipótesis de que el eje esplénico GH/IGF-I responde al estrés nutricional causado por la disminución en el nivel de proteína dietaria, de modo que se preserve la homeostasis del tejido. Aunque los animales LID exhiben un tamaño reducido del bazo y del timo en comparación con los controles, el porcentaje relativo de células B y T no se afecta por el silenciamiento del gen *Igf-1* hepático; sin embargo, muestran un incremento marcado en la población de células CD4+ bajo restricción nutricional (**Mejía-Naranjo, Yakar, Sánchez-Gómez, Umaña-Pérez, Setter, LeRoith, 2002**).

En órganos linfoides primarios como el timo, no encontramos diferencias en los timocitos inmaduros dobles positivos (CD4+CD8+) ni en las subpoblaciones maduras (CD4+CD8- y CD4-CD8+) en los LID y controles. La deficiencia de proteína sí mostró diferencias relacionadas con el proceso de maduración de timocitos, lo que sugiere una participación del IGF-I circulante en la hematopoyesis (**Mejía-Naranjo, Yakar, Sánchez-Gómez, LeRoith, 2002**).

En conjunto los resultados de estos estudios sugieren que el eje local GH/IGF-I en células linfoides puede estar modulando cambios adaptativos, protegiendo el sistema inmune de efectos deletéreos mayores causados por la desnutrición. Lo anterior es consistente con la hipótesis reciente que atribuye funciones inmunomoduladoras a GH e IGF-I con base en sus acciones anabólicas y por lo tanto no serían reguladores obligados del sistema inmunitario (**Foster, Jensen, Montecino-Rodríguez, Leathers, Horseman, Dorshkind**, 2000). Es necesario por lo tanto profundizar en estudios de funcionalidad para evaluar la respuesta inmune celular y/o humoral ante el reto con antígenos específicos y el papel modulador del eje hormonal.

El eje GH/IGF en la patogénesis de enfermedades

Numerosas investigaciones han demostrado que los factores IGF-I e IGF-II son potentes mitógenos para una amplia variedad de tipos celulares. Son reguladores importantes del ciclo celular y de eventos anti-apoptóticos, por lo cual su acción está asociada con tumorigénesis y desarrollo de varios tipos de cáncer en el humano (**LeRoith & Roberts**, 2003).

La enfermedad trofoblástica gestacional (ETG) comprende un espectro de tumores interrelacionados que surgen de un desarrollo anormal del tejido trofoblástico. Esta enfermedad varía desde benigna como la mola hidatidiforme (completa y parcial) hasta maligna como el coriocarcinoma. La mola hidatidiforme (MH) constituye aproximadamente el 80% de los tumores trofoblásticos, es el producto de la concepción caracterizado por hiperplasia trofoblástica y degeneración hidrópica de las vellosidades. La forma clásica denominada mola completa (MC) no presenta tejido embrionario, en tanto la parcial (MP) se asemeja más a una placenta normal con restos de tejido fetal (**Li, Tsao, Cheung**, 2001).

La tasa de incidencia de la mola por regiones varía mucho en Colombia; según datos recientes se estima en 3,73 casos por 1.000 embarazos, cifra por encima del promedio mundial que es de 1:1000 (**Cortés, Ching, Páez y cols**, 2003). La morbilidad por anemia puede ocurrir en cerca de la mitad de estas pacientes y por lo menos el 10% de ellas requiere quimioterapia por coriocarcinoma (**WHO**, 1983).

Los mecanismos moleculares involucrados en la patogénesis de la mola se desconocen en su mayor parte. Los factores de crecimiento similares a la insulina IGF-I e IGF-II y sus receptores son sintetizados y secretados por células del citotrofoblasto, lo que plantea un mecanismo de acción autocrino/paracrino. En un estudio realizado

en nuestro laboratorio se ha examinado el papel del eje GH/IGF en el desarrollo de la ETG en pacientes captadas dentro del Programa de Vigilancia de la Enfermedad Trofoblástica Gestacional del Instituto Nacional de Salud en instituciones centinela en las ciudades de Bogotá y Zipaquirá, en el período comprendido entre Agosto de 2002 y Agosto de 2005. Del total de 73 casos estudiados, 52 correspondieron a MC, 6 casos a MP y 12 a aborto espontáneo (A). El estudio fue avalado por los Comités de Ética de la Universidad Nacional y del Instituto Nacional de Salud y en cada caso se diligenció y firmó el correspondiente consentimiento informado.

El diagnóstico de la enfermedad se basa en el análisis morfológico e histológico del tejido evacuado y por elevación de los niveles circulantes de la hormona gonadotropina coriónica (hCG) en comparación con un embarazo de la misma edad gestacional (Tabla 1). La evaluación de los niveles circulantes de IGF-I e IGF-II mediante radioinmunoanálisis (RIA) específico, mostró en pacientes con mola completa una tendencia a menores valores de IGF-I y mayores de IGF-II en comparación con aborto (Tabla 1) (**Cantero**, 2004). Estos cambios fueron más evidentes al examinar el nivel de expresión de los genes en los tejidos. Los resultados demostraron una expresión significativamente ($p < 0.001$) elevada de los ARN mensajeros de IGF-II y del receptor IGF-IR en mola completa en comparación con abortos espontáneos de la misma edad gestacional (Tabla 2). Consistentemente con los resultados anteriores, el análisis del contenido de IGF-II en los tejidos también fue significativamente ($p < 0.05$) más alto en comparación con placentas de abortos espontáneos, mientras que las concentraciones de IGF-I no fueron diferentes en mola y en abortos.

Varios factores pueden ser responsables de la elevación en la expresión de IGF-II en mola. Conociendo el hecho de que en placenta ocurre impronta del gen *Igf-2*, su sobreexpresión puede estar asociada con la pérdida o relajamiento de la misma. En un estudio reciente (**Kim, Park, Lee, Lee, Kim, An, Oh**, 2003) se demostró alteración en la impronta de los genes *Igf2* (43% de los casos) y *H19* (18% de los casos) en mola completa, incrementando la ocurrencia en tumores trofoblásticos gestacionales (57% y 40% respectivamente), lo cual muestra el papel potencial de estos genes en la progresión de la enfermedad. Aunque no está aún definido, se sugiere que la impronta del gen *Igf-2* se establece durante el primer trimestre de gestación normal. En la gestación androgenética se ha encontrado la co-expresión de los genes *Igf-2* y *H19*, los cuales tienen improntas recíprocas, pudiendo ser otra la explicación para la elevación de la expresión del IGF-II

Tabla 1. Niveles séricos de proteína total, β -hCG, IGF-I e IGF-II en Mola Hidatidiforme completa y parcial y en abortos espontáneos.

Casos	Edad Materna (Años)	Edad Gestacional (Semanas)	Proteína total (mg/100 ml)	β hCG (mUI/ml) Pre	β hCG (mUI/ml) Pos	IGF-I (ng/ml)	IGF-II (ng/ml)
Aborto Espontáneo	29,3 \pm 8,4 n=12	10,4 \pm 3,5 n=12	9,62 \pm 1,97 n=8	97.101 n=5	25.880 n=5	220,0 \pm 69 n=8	979,4 \pm 20,5 n=7
Mola Completa	22,0 \pm 6,6 n=52	13,0 \pm 3,2 n=49	9,26 \pm 1,45 n=25	506.908 n=21	101.010 n=21	199,1 \pm 88,9 n=24	1020,8 \pm 32,4 n=19
Mola Parcial	23,8 \pm 3,8 n=6	13,4 \pm 4,7 n=6	10,35 \pm 0,07 n=2	138.000 n=2	110.000 n=2	188,1 \pm 57,3 n=2	823,4 \pm 54,2 n=2

Los valores están presentados como el promedio de n (número de casos) \pm DE de terminaciones por triplicado.

Tabla 2. Niveles de expresión de IGF-I, IGF-II, IGF-IR y GHR en Mola Hidatidiforme completa y parcial en comparación con abortos espontáneos de similar edad gestacional.

Casos	mARN IGF-I/GAPDH	mARN IGF-II/GAPDH	mARN IGF-IR/GAPDH	mARN GHR/GAPDH	IGF-I (ng/mg tejido)	IGF-II (ng/mg tejido)
Aborto Espontáneo	0,240 \pm 0,04 n=8	1,520 \pm 0,04 n=8	0,299 \pm 0,01 n=8	0,604 \pm 0,01 n=8	23,62 \pm 5,6 n=7	216,7 \pm 16,8 n=7
Mola Completa	0,211 \pm 0,01 n=12	2,82 \pm 0,39 ^a n=12	0,631 \pm 0,12 ^a n=12	0,604 \pm 0,02 n=12	24,1 \pm 15,3 n=23	279,3 \pm 20,7 ^a n=16
Mola Parcial	0,232 \pm 0,02 n=3	3,034 \pm 0,07 ^a n=3	0,636 \pm 0,04 ^a n=3	0,582 \pm 0,02 n=3	27,2 \pm 5,4 n=2	450,8 \pm 36,7 ^a n=2

Los valores de densitometría están normalizados con el gen casero GAPDH. Se presentan como el promedio de n (número de casos) \pm DE de determinaciones por triplicado. ^a Valores significativamente diferentes en comparación con aborto P< 0.05.

con respecto a los abortos en los que hay genoma materno y fetal, caso en el cual, no se perdería la impronta recíproca.

La expresión del IGF-II está regulada por cuatro promotores (P1-P4). En los tejidos humanos normales, el hígado de adulto es el único órgano que predominantemente utiliza el promotor P1 para la expresión de IGF-II. Sin embargo, la activación del promotor P1 se ha descrito en casos de malignidad como hepatomas, tumores ováricos y de Wilm's y recientemente se ha sugerido que los promotores P2-P4 cambian a P1 durante la carcinogénesis (Vu, Chuyen, Li, Hoffman, 2003). En placenta normal se ha registrado el uso del promotor P1 al comienzo de la gestación disminuyendo de manera gradual a medida que

se incrementa el uso del promotor P4. Se ha señalado el uso preferente de P1 con silenciamiento relativo de P4 en mola hidatidiforme y tumores trofoblásticos (Kim, Park, Lee, Lee, Kim, An, Oh, 2003), lo que podría explicar el aumento en la transcripción del gen Igf-2 observado en este estudio.

Los resultados no mostraron diferencias en la transcripción del gen del receptor de GH (GHR) en mola y en aborto (Tabla 2), aunque se detectaron mayores niveles de expresión de la variante de la hormona de crecimiento (GH-V) en tejido molar (Vera, 2004). Es conocido que durante la gestación la GH-V de placenta pasa a la circulación materna y reemplaza a la GH de pituitaria, pero se desconoce su papel en embarazos molares. Ensayos reali-

zados en cultivos primarios provenientes de explantes de tejido molar y estimulados con diferentes dosis de GH recombinante humana (rhGH) no mostraron cambios en proliferación (**Díaz**, resultados no publicados), pero sí altos niveles de expresión de IGF-II (**Bernal**, 2004). En conclusión, las alteraciones en el mecanismo de expresión del sistema IGF en Mola Hidatidiforme son un soporte experimental a la hipótesis de un papel de estos factores en el desarrollo de esta patología. Además, la sobre-expresión de IGF-II podría ser explotada como predictor de malignidad de la enfermedad y así poder crear en un futuro oportunidades de prevención y terapias concretas.

Agradecimientos

La autora agradece a su grupo de investigación, profesores y estudiantes de doctorado, maestría y pregrado quienes realizaron bajo su dirección el trabajo aquí expuesto. También expresa su agradecimiento a los investigadores del Laboratorio de Genética del Instituto Nacional de Salud y del Instituto Materno Infantil coinvestigadores del proyecto de Mola Hidatidiforme. Al Dr. Derek LeRoith y su grupo de investigación en el National Institutes of Health, Bethesda, EE.UU por la fructífera colaboración y asesoría en los estudios celulares y moleculares y por facilitar el acceso al modelo transgénico. Al Dr. Gunnar Norstedt y su grupo de investigación en el Instituto Karolinska, Suecia por la valiosa asesoría y colaboración en los estudios de expresión génica. Al Internacional Program in the Chemical Sciences (IPICS), Universidad de Uppsala, Suecia por su invaluable y continuo apoyo científico y financiero sin lo cual no hubiera sido posible la consolidación del grupo y a Colciencias y a la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia por la financiación de los diferentes proyectos.

Bibliografía

- Beauloye, V., B. Willems, V. de Coninck, S. J. Frank, M. Edery, J-P. Thissen.** 2002. Impairment of liver GH receptor signaling by fasting. *Endocrinology* **143**: 792-800.
- Bermúdez, J. A.** 1994. Expresión de los genes del Receptor de la hormona de Crecimiento y del Factor similar a la insulina I en linfocito de rata bajo condiciones de restricción proteínica-calórica. Tesis de Maestría en Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Bernal Y.** 2004. Estudio de la expresión de mRNA de IGF-II en cultivo celular de placenta humana de primer trimestre. Trabajo de Grado en Química. Universidad Nacional de Colombia.
- Calderón, S. A. Umaña-Pérez, M. Sánchez-Gómez.** 2004. SOCS3 and SOC2 are important regulators of muscle tissue sensitivity to GH in protein restricted rats. *Growth Hormone & IGF Res.* **12**(4):132.
- Caminos, J. E.** 1995. Construcción de una genoteca de cDNA de linfocito de rata. Tesis de Maestría en Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Cantero M. E.** 2004. Estudio predictivo de algunos marcadores bioquímicos en suero de pacientes con Mola Hidatidiforme. Tesis de Maestría en Bioquímica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Carrasco-Rodríguez, S.** 2000. Expresión de los genes del receptor de la hormona de crecimiento y del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I bajo restricción nutricional. Tesis de Doctorado en Ciencias-Químicas. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Cortés, C, R. Ching, P. Páez, A. Rodríguez, H. León, H. Capasso, F. Lozano, V. González, H. Aramendiz, F. Pedroza, P. Galvis, E. Forero, E. Aragón, C. Arteaga, A.J. Bermúdez.** 2003. La mola hidatidiforme: un indicador de la situación sociodemográfica en salud sexual y reproductiva. *IQUEN.* **8**(12): 199-204.
- Daughaday, W. H., K. Hall, M. S. Raben, W. Salmon Jr, J. L. Van der Brande, J.J. Van Wyj.** 1972. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature* **235**: 107.
- Delhase, M., P. Vergani, A. Malur, E. Hooge-Peters, R. Hooge,** 1993. The transcription factor Pit-1/GHF-1 is expressed in hemopoietic and lymphoid tissues. *Eur J Immunol* **23**: 951-955.
- Ercole, A. J., G. T. Applewhite, L. E. Underwood.** 1980. Evidence that somatomedin is synthesized by multiple tissues in the fetus. *Dev Biol* **75**: 315-328.
- Foster, M., E. Jensen, E. Montecino-Rodríguez, H. Leathers, N. Horseman, K. Dorshkind,** 2000. Humoral and cell-mediated immunity in mice with genetic deficiencies of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I and thyroid hormone. *Clinical Immunol* **96**(2): 140-149.
- Garzón, R.** 2004. Estudio de la señalización (Activación/desactivación) del receptor de la Hormona de Crecimiento (GHR) en células linfoides y su regulación por citoquinas, quimioquinas y la disponibilidad de nutrientes. 2004. Tesis de Doctorado en Ciencias-Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Kim, S. J., S. E. Park, C. Lee, S. Y. Lee, I. H. Kim, H. J. An, Y. K. OH.** 2003. Altered imprinting, promoter usage, and expression of insulin-like growth factor-II gene in gestational trophoblastic diseases. *Gynecol Oncol.* **88**(3): 411-418.
- LeRoith, D., C. Bondy, S. Yakar, J. Liu, A. Butler.** 2001. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* **22**: 53-74.
- _____, **C. T. Roberts, CT.** 2003. The insulin – like growth factors system and cancer. *Cancer Letters.* **195**:127–137.
- Li H.W, S.W. Tsao, A.N. Cheung.** 2001. Current understandings of the molecular genetics of gestational trophoblastic diseases. *Placenta* **23**: 20-31.
- Liu, J.L. & D. LeRoith.** 1999. Insulin-like growth factor-I is essential for postnatal growth in response to growth hormone. *Endocrinol* **140**: 5178-5184.
- Mejía-Naranjo, W., M. Sánchez-Gómez, D. LeRoith.** 2002. The growth hormone – Insulin-like growth factor-I axis and immunity. In: *Growth and Lactogenic Hormones. Neuroimmune Biology*, Vol 2. Ed. L. Matera & R. Rapaport. Elsevier, Amsterdam. p. 9-25.

- _____, **S. Yakar, M. Sánchez-Gómez, A. Umaña-Pérez, J. Setser, D. LeRoith.** 2002. Protein calorie restriction affects nonhepatic IGF-I production and the lymphoid system: Studies using the liver-specific IGF-I gene-deleted mouse model. *Endocrinol* **143**(6): 2233-2241.
- _____, **D. LeRoith.** 2002. Role of the local GH/IGF-I axis on the maturation process of thymocytes in the LID Mouse model under nutritional stress. *Growth Hormone & IGF Res.* **12**(4):257-258.
- _____, 2003. Estudio del papel paracrino/autocrino del eje hormona de crecimiento (GH)/Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) y su regulación por la proteína dietaria en células linfoides. Tesis de Doctorado en Ciencias-Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- _____, **S. Yakar, R. Bernal, D. LeRoith, M. Sánchez-Gómez.** 2003. Regulation of the splenic somatotropic axis by dietary protein and insulin-like growth factor-I in the rat. *Growth Hormone & IGF Res.* **13**(): 254-263.
- _____ & **M. Sánchez-Gómez.** 2004. Protein malnutrition up-regulates growth hormone receptor expression in rat splenic B lymphocytes. *Biomédica* **24**(4): 403-412.
- _____, **S. Lasky, W. Lowe, W. Seaman, D. LeRoith.** 1987. Molecular cloning of rat insulin-like growth factor-I complementary deoxyribonucleic acids: differential messenger ribonucleic processing and regulation by growth hormone in extrahepatic tissues. *Mol Endocrinol* **1**: 243-248.
- Sánchez-Gómez, M., K. Malmjöf, W. Mejía-Naranjo, A. Bermúdez, M.T. Ochoa, S. Carrasco-Rodríguez, A. Skottner.** 1999. Insulin-like growth factor-I, but not growth hormone, is dependent on a high protein intake to increase nitrogen balance in the rat. *Br J Nutr.* **81**: 145-152.
- Umaña A., S. Yakar, D. LeRoith, M. Sánchez-Gómez.** 2002. SOCS2 and SOCS3 contribute to GH resistance in malnourished liver IGF-I deficient mice. *Growth Hormone & IGF Res.* **12**(4): 280.
- _____, **S. Carrasco, M. Sánchez.** 2003. Role of the cytokine-3 signaling suppressor protein (SOCS-3) in growth hormone resistance induced by malnutrition. *Biomédica* **23**(3): 301-308.
- Vera P.** 2004. Detección de la expresión del gen de la hormona de crecimiento variante por RT-PCR. Trabajo de Grado en Química. Universidad Nacional de Colombia.
- Vu, T. H., N. Chuyen, T. Li, A. Hoffman.** 2003. Loss of imprinting of IGF2 sense and antisense transcripts in Wilm's tumor. *Cancer Research* **63**: 1900-1905.
- Wang, Y. and H. Jiang.** 2005. Identification of a distal STAT5-binding DNA region that may mediate growth hormone regulation of insulin-like growth factor-I gene expression. *J Biol Chem* **280**(12): 10955-10963.
- Weigent, D., J. Baxter, W. Wear, L. Smith, K. Bost, J. Blalock.** 1988. Production of immunoreactive growth hormone by mononuclear leukocytes. *FASEB J.* **2**: 2812-2818.
- World Health Organization.** 1983. Gestational trophoblastic diseases. Report of a WHO Scientific Group. Geneva.
- Xu, X., C. Mardell, C. Xian, H. Zola, C. Read,** 1995. Expression of functional insulin-like growth factor-I receptor on lymphoid cell subsets of rats. *Immunology* **85**: 394-399.
- _____, **S.A. Bennett, R.L. Ingram, W.E. Sonntag.** 1995. Decreases in growth hormone receptor signal transduction contribute to the decline in insulin-like growth factor I gene expression with age. *Endocrinology* **136**: 4551-4557.
- Yakar, S., J. Liu, B. Stannard, A. Butler, D. Accili, B. Sauer, D. LeRoith.** 1999. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor-I. *Proc Natl Acad Sci.* **96**: 7324-7329.

Recibido el 3 de octubre de 2005.

Aceptado para su publicación el 26 de marzo de 2006.