

FACTORES DE CRESCIMENTO

CARLOS MANSO

Centro de Metabolismo e Endocrinologia. Faculdade de Medicina de Lisboa. Portugal

RESUMO

O Autor revê os principais factores de crescimento descritos até à data e debruça-se sobre algumas das suas propriedades e mecanismos de acção. Analiza o problema das somatomedinas e NSILA e faz considerações sobre a importância futura.

SUMMARY

Growth Factors

The Author reviews the main growth factors described so far as well as some of their properties and mechanisms of action. He analyzes the problem of somatomedins and NSILA. Finally he discusses their future importance.

1. A ORIGEM DO TERMO

O conceito de hormona tem evoluído continuamente. Começou-se por considerar hormona um mensageiro químico circulante, produzido em órgãos bem definidos. Mais tarde este conceito foi alargado, de modo a abranger mensageiros químicos sintetizados em tecidos diversos, caso das hormonas peptídicas do tubo digestivo. Finalmente aparecem novos polipéptidos, os factores de crescimento, que circulam no sangue sem local de produção identificado, umas vezes múltiplo, outras desconhecido. Eles também transmitem mensagens às células através da união com receptores.

Os factores de crescimento foram identificados, na maioria, a partir de culturas de tecidos.¹ Com efeito verificou-se que as células em cultura requeriam a adição de substâncias não nutrientes para a sua poliferação, (soro, plasma, embrião de galinha, etc.). Daí o dizer-se que certa cultura necessitava de um factor de crescimento, existente num destes locais, para o seu desenvolvimento adequado. Assim se deu início ao isolamento de factores de soro, necessários para a manutenção de diversas linhagens celulares.

Podemos definir Factor de Crescimento como uma substância que estimula o crescimento (tamanho, multiplicação, diferenciação) de células em culturas de tecidos, e que não é utilizado como nutriente. Muitos destes factores assim identificados exercem funções fisiológicas de grande interesse. São todos eles péptidos de tamanho variável.

2. CONCEITO ACTUAL

Este conceito primitivo de F.C. como substância necessária para a manutenção de uma dada cultura de tecidos foi evoluindo à medida que estes factores foram sendo identificados, se reconheceu a sua estrutura peptídica, e se definiu os seus mecanismos de acção. Trata-se de substâncias produzidas em quantidades mínimas em diversos órgãos (por vezes a origem é desconhecida) e que actuam no interior das células.

O facto de uma substância proteica actuar no interior de uma célula era negado até há pouco tempo. Contudo experiências com péptidos marcados com ferritina, radioisótopos ou substâncias fluorescentes permitiram demonstrar a internalização de numerosos péptidos de elevado peso molecular, tais como a insulina, a prolactina, a hormona do crescimento, os F.C., diversas lipoproteínas, etc.²

A internalização de hormonas peptídicas é hoje um tópico de grande interesse, ainda não totalmente compreendido, e que vamos analisar em pormenor.³ (Fig. 1).

a) A hormona na superfície celular

Quando se incubava (¹²⁵ I) — insulina com hepatócitos de rato, passados 5 minutos grande parte da insulina está ligada à membrana do hepatócito, formando complexo hormona-receptor (H-R).

b) A formação de agregados (H-R)

A baixas temperaturas (4.º) os complexos H-R ficam distribuídos difusamente pela superfície celular. Porém a 37º, os complexos H-R tendem a fazer ligações cruzadas entre si (possivelmente por acção da transglutaminase)⁴ de que resulta a formação de um agregado que atinge uma massa crítica.

c) Internalização do agregado

Este fenómeno está particularmente bem estudado para a insulina, e na generalidade passa-se de forma semelhante noutros casos.

Quando o agregado de complexos H-R atinge a massa crítica forma-se uma vesícula pinocítica, que se separa da membrana celular, ficando internalizada. No caso da insulina 60 % fica à superfície e 40 % passa para o interior da célula.

d) Destino intracelular da hormona

As vesículas pinocitadas fundem com a membrana dos lisosomas.

Aqui os pépticos sofrem alterações ainda mal conhecidas, depois do que aparecem no aparelho do Golgi, no retículo endoplásmico e no núcleo, onde são responsáveis: pela resposta celular à hormona (formação de ácidos nucleicos, acção mitogénica, etc.).

Desta forma as hormonas peptídicas circulantes regulam directamente o número de receptores nas células alvo.

A. H.C., glucagina, insulina, F.C.E., tirotrófina causam diminuição do número de receptores na membrana. A prolactina porém provoca aumento dos seus receptores, em virtude de induzir a sua síntese.

FACTOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO (FCE)

O FCE é um polipéptido com 53 aminoácidos, e PM = 6045. Caracteristicamente estão ausentes da sua estrutura alanina, fenilalanina e lisina. Contem 3 ligações bissulfureto, que são necessárias para a sua actividade. O aminoácido N-terminal é asparagina e o C terminal é arginina. Pode perder o pentapéptico terminal, formando um polipéptido de 48 aminoácidos, que mantém toda a actividade (Fig. 2).

Foi isolado inicialmente da glândula submaxilar do murganho e, mais tarde, encontrado no soro humano. A constituição de ambos é semelhante em 80 %. Curiosamente, verificou-se que o FCE humano é idêntico à urogastrona. Isto foi confirmado quando se verificou que o FCE causa uma resposta gástrica antsecretora e que a urogastrona tem os efeitos biológicos do FCE.

Existe um receptor de membrana de PM = 100 000, que é uma glicoproteína. Cada célula possui 40 000 a 100 000 receptores, com uma constante de dissociação de $2-4 \cdot 10^{-10}M$. As membranas da placenta e do fígado tem elevada capacidade para unir o FCE.

O complexo F-R, uma vez formado, é internalizado por formação de vesículas pinocíticas e levado aos lisosomas.

A actividade dos receptores é modulada pelo próprio FCE. Incubando células com FCE, diminui o número de receptores, provavelmente devido à internalização. Este número é recuperado em cerca de 9 horas, por adição de soro às células, através da síntese da macromolécula, o que é confirmado pela sua inibição, por actinomicina D, que impede a síntese proteica.

No murganho o FCE é sintetizado na glândula submandibular e armazenado em granulos. Os níveis circulatórios não baixam após excisão da glândula, o que permite concluir que a sua síntese se realiza noutros locais também. A síntese é estimulada no macho por androgéneos. Contudo a concentração na fêmea é igual. É libertado por agentes alfa-drenérgicos. A urogastrona é produzida nas glândulas salivares e nas glândulas de Brunner. Mulheres que tomam contraceptivos orais têm uma excreção urinária aumentada.

Existem semelhanças entre o FCE e o FCN: ambos estão armazenados na glândula submandibular do murganho nas células granulares tubulares, sensíveis à testosterona. Juntamente está a α -amilase. Ambos são secretados na saliva, como secreção exócrina. Ambos existem como complexos de elevado peso molecular. Assim o FCE é subunidade de uma proteína de PM = 74 000.⁵

Murganhos com distrofia muscular hereditária têm níveis reduzidos de FCE e de FCN na saliva.

Utilizando FCE marcado com radioisótopo ou com uma substância fluorescente verifica-se que apenas há uma classe de receptores nas células em cultura. Após união, os receptores agregam e são internalizados, produzindo uma resposta mitogénica.⁶

Demonstrou-se que o efeito mitogénico da somatomedina B era neutralizado por anticorpos contra o FCE. Na realidade a somatomedina B actuava através da contaminação por FCE. Quando pura é inactiva.⁷

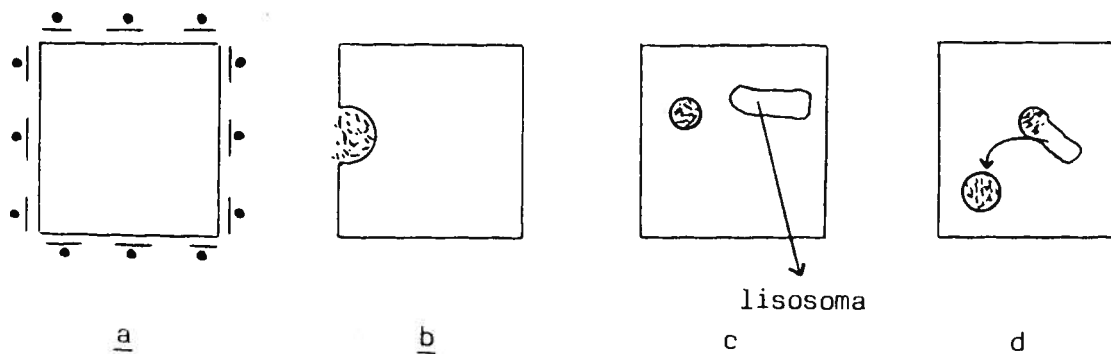


Figura 1: Internalização de hormona (receptor; hormona)

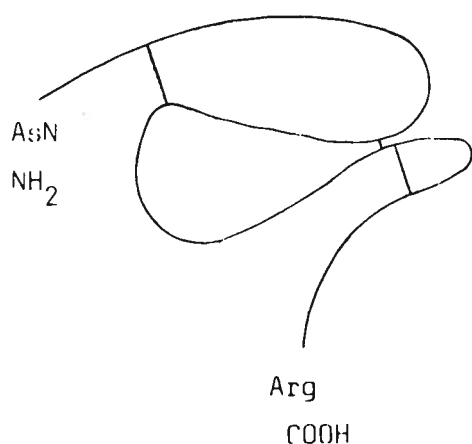


Figura 2: Factor de crescimento epidérmico

Verificou-se que o FCE é um potente estimulador da síntese de ADN e da divisão celular, em células de cultura. Estirpes de células mutantes que não possuam o receptor, não respondem à sua adição, embora possam responder a outros mitogénicos, como por exemplo o forbol-miristato.⁸

As principais acções do FCE consistem num efeito mitogénico muito potente sob várias células epiteliais e epidérmicas in vivo e in vitro. Estimula o crescimento de diversas células em cultura: fibroblastos, células gliais, células da granulosa, etc.

Verificou-se ainda que a vitamina K₃ actua sobre o receptor do FCE, reduzindo a ligação deste, por baixar a afinidade, sem afectar o número de receptores.⁹

FACTOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DAS PLAQUETAS (FCDP)

São conhecidos diversos péptidos que actuam sobre o tecido conjuntivo, estimulando a síntese de ADN, o consumo de glucose a formação de glucosaminoglicans nas células sinoviais, etc. Eles foram extraídos de plaquetas, de linfócitos, de neutrófilos, de células tumorais, etc.

Porém o mais bem caracterizado é o factor de crescimento derivado das plaquetas, existente nos grânulos alfa, juntamente com a B-tromboglobulina. Esta é inactiva biologicamente, é indistinguível imunologicamente do FCDP. Verificou-se que diferem pelo facto de o FCDP ter uma sequência N-terminal de 4 aminoácidos que faltam naquela, o que faz pensar que a B-tromboglobulina será ou precursor ou forma de degradação do FCDP. Tem também duas pontes bissulfureto, necessárias para a sua activação.¹⁰ (Fig. 3).

Este factor estimula a replicação de fibroblastos, de células gliais, e de células musculares lisas.¹¹

Na *release reaction* os granulos libertam o seu conteúdo (F-4, que neutraliza heparina, fibrinogénio, FCDP). O FCDP dá o sinal para os fibroblastos iniciarem a replicação celular. Numa ferida do endotélio arterial as plaquetas aderem, libertam o conteúdo induzindo a proliferação das células musculares, de que resulta o espessamento da íntima que se assemelha a uma placa aterosclerótica.¹²

FACTOR DE CRESCIMENTO NERVOSO (FCN)

O FCN é necessário para o crescimento e manutenção dos neurónios simpáticos. A suspeita da sua existência resulta de estudos embriológicos realizados no início deste século.

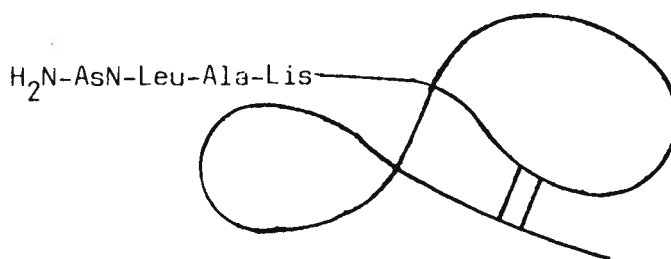


Figura 3: Factor de crescimento derivado das plaquetas (PM=13000)

Ross Harrison procurou utilizar o sistema nervoso de larvas de anfíbios para inervar enxertos de membros ou de órgãos de outras espécies. Pretendia ver como os gânglios simpáticos e os gânglios espinhais se adaptavam às dimensões diferentes e às conformações de órgãos estranhos. Verificou que o sistema nervoso era flexível nas suas possibilidades de adaptação a situações novas. Era sensível às influências exercidas pelo campo periférico e que estas influências não eram características da espécie.

As experiências realizadas nos anos seguintes pouco permitiram concluir, dado que muitas vezes era difícil interpretar as respostas.

Em 1948 Bucker implantou um tumor de murganho (o sarcoma 180) subcutaneamente, num grupo de murganhos.

O tumor era rapidamente invadido por fibras nervosas sensitivas e simpáticas, mas não motrizes. Ao mesmo tempo os gânglios respectivos aumentavam de volume 20 a 40%. Estas experiências foram interpretadas como significando que o sarcoma 180 produz um factor que estimula o crescimento do sistema nervoso sensitivo e simpático.

Mais tarde verificou-se que este mesmo factor estava presente em concentrações cerca de 1000 vezes maiores no veneno de certas serpentes.¹³

Posteriormente encontrou-se uma fonte muito mais rica de FNC, que era a glândula submandibular do murganho macho. Todas as células normais contem uma pequena quantidade deste factor.

Tomando um gânglio simpático e incubando-o durante 12 horas num meio semisólido contendo FCN, após este tempo nota-se a presença de um halo de fibras nervosas, envolvendo o gânglio. Neste facto se baseia o ensaio biológico do FCN.

Injectando FCN durante 10 dias no cérebro de rato recém nascido, o factor difunde a partir do local da injeção, em direcção à medula, para atingir os gânglios simpáticos adjacentes. Dá-se um crescimento de fibras nervosas simpáticas, que se estendem até ao local de injeção. Por outro lado aumentam as ramificações simpáticas na periferia. O FNC estimula acumulação de AMP cíclico, que provavelmente media alguns dos seus efeitos.³⁷ Além disso aumenta a aderência entre as células dos nervos simpáticos, que talvez seja a primeira etapa do crescimento das neurites.³⁸

Tudo leva a pensar que a presença de elevada concentração de FCN actua como neurótropo para as fibras simpáticas, atraindo o nervo para o local de maior concentração.¹⁵

Foi demonstrada a presença de receptores específicos macromoleculares nos tecidos que respondem ao FCN e também que este atravessa a membrana dos axónios, podendo ser sujeito a transporte axonal retrógrado, até ao corpo celular do neurónio.

O número de receptores é aumentado por 6-hidroxi-dopamina.³⁰⁻³⁴⁻³⁵

O receptor é assimétrico, tem um *peso molecular* de 135 000, e é minimamente hidrofóbico, o que significa que só uma pequena porção da sua superfície contacta com a dupla camada de lípidos da membrana celular.³⁶

O estudo da sua sequência de aminoácidos revelou forte parecência com a estrutura da insulina. Trata-se de um polipeptido com 118 aminoácidos, contendo 3 pontes bissulfureto, começando em serina e terminando em arginina.^{19, 20} (Fig. 4). A digestão triptica desta molécula origina péptidos mais curtos mas mais activos (em especial um dipéptido contendo os resíduos 10-25 e 75-88 unidos por uma ponte S-S).³¹

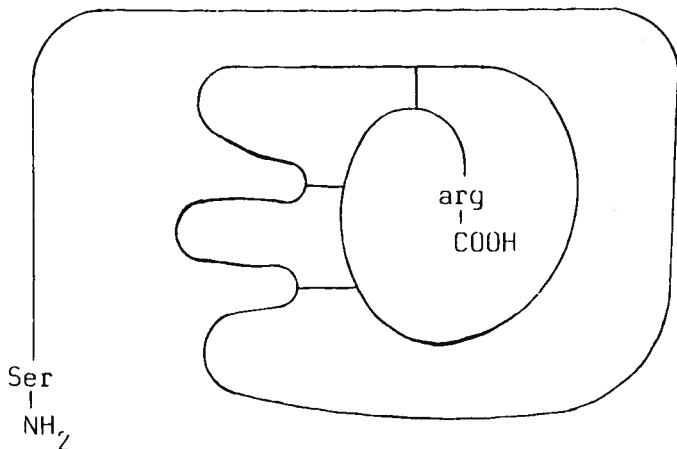


Figura 4: Factor de crescimento nervoso.

Normalmente existe sob a forma de dímero de 2 monómeros (β) de PM=13 250. Este dímero forma um complexo estável com duas moléculas de duas outras proteínas (α e γ) na presença de átomos de Zn^{++} (Fig. 5).

A proteína γ é uma arginina-protease, que cliva a cadeia polipeptídica de um precursor de maior peso molecular, ficando unida à extremidade Arg.

A proteína α não tem actividade conhecida. O dímero livre de (β_2) está em equilíbrio com os monómeros β , que são a forma activa. O dímero será uma forma de reserva. É de notar que na glândula submandibular do murganho o FCN sofre uma segunda alteração por peptidase, de que resulta a perda do octapéptido inicial.³²

O FCN permite a sobrevivência por tempos indefinidos de neurónios capazes de produzir fibras em cultura. Os seus efeitos morfológicos in vivo têm sido estudados especialmente nos gânglios simpáticos, nas células da medula SR e nos neurónios catecolaminérgicos do SNC.

Ação sobre os neurónios simpáticos: por contacto com FCN o neurónio simpático desenvolve uma intensa actividade metabólica, produzindo materiais para o crescimento do nervo e para a biossíntese de neurotransmissores.¹⁷ Aumenta a polimerização de tubulinas, formando microtúbulos, e de actina, formando microfilamentos, que constituem a base do crescimento das fibras nervosas. Por outro lado o volume do gânglio pode aumentar 5 a 6 vezes.

Ação sobre a medula suprarrenal: após administração de FCN, a medula suprarrenal torna-se hiperplástica.

Ação sobre os neurónios catecolaminérgicos do SNC: quando o FCN é injectado no cérebro de roedores recém nascidos, dá-se uma invasão do cérebro por fibras ganglionares simpáticas. Fundamentalmente o FCN estimula a formação de circuitos nervosos simpáticos e sensitivos, mas não motores. Além disso, ele estimula a indução dos enzimas sintetizadores de noradrenalina (tirosina hidroxilase e dopamina-beta-hidroxilase).¹⁴

É de notar que os neurónios sensitivos também necessitam de FNC. Porém os requerimentos iónicos são diferentes. Assim o magnésio e o potássio são necessários para o crescimento dos neurónios sensitivos, ao passo que o cálcio é fundamental para o crescimento dos neurónios simpáticos.³³

Alterações em doenças: na doença de Paget o FCN está caracteristicamente elevado, em média 5 vezes o valor normal.^{16, 18} Também na doença de Von Recklinghausen (neurofibromatose) foi descrita a sua elevação, embora em menor grau.

Ação de hormonas: a tiroxina aumenta a sua concentração no cérebro de murganho, admitindo-se que as hormonas tiroideias estimulem a sua síntese. O estradiol estimula a formação de FCN em cultura de tecidos.

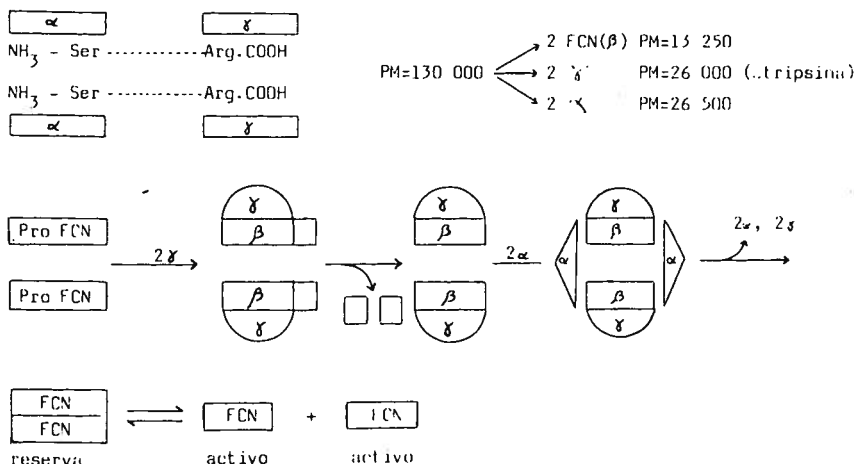


Figura 5: Complexo precursor do factor de crescimento nervoso

ACÇÕES EXTRANEURONAIS DO FCN

O FCN inibe selectivamente a síntese de condromucoproteína (medida pela incorporação de sulfato) assim como a síntese total de proteínas da cartilagem. Este efeito é curioso pois contrasta com a acção da insulina e das somatomedinas, que com ele estão relacionadas quimicamente.

É possível que esta acção inibidora da síntese da matriz cartilaginosa facilite o crescimento das fibras nervosas adjacentes.⁵⁶

OUTROS FACTORES RELACIONADOS COM O CRESCIMENTO DE CÉLULAS DO SISTEMA NERVOSO

Foi descrito um factor glial que induz a formação de espículas em células de neuroblastoma em culturas.

Também foi descrito um factor isolado de culturas de células gliais que suporta a sobrevivência e formação de fibras de neurónios sensoriais. Ambos são distintos do FCN.³⁹

FACTORES DE CRESCIMENTO RELACIONADOS COM INSULINA E SOMATOTROFINA

Neste grupo engloba-se um conjunto de factores ainda não perfeitamente caracterizados, cuja acção está dependente da presença de hormona do crescimento (HC) e de insulina.

A sua descoberta baseou-se em dois factores fundamentais:

- 1.º o ter-se verificado que numerosas acções da hormona do crescimento não eram realizadas directamente mas através da libertação de péptidos pelo fígado. Estes péptidos foram denominados somatomedinas (Stm) tendo-se descrito 3 substâncias diferentes, as Stm A, B e C.
- 2.º o ter-se verificado que a actividade hipoglicemiante do soro não era apenas devida à insulina. Com efeito a neutralização desta por anticorpos não era suficiente para abolir a actividade hipoglicemiante.

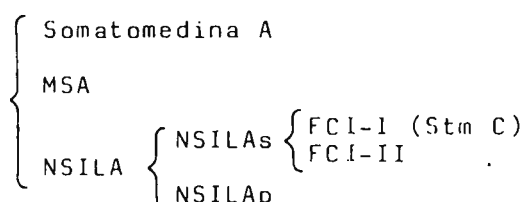
Assim apareceu a NSILA (non suppressible insulin like activity). Investigações subsequentes permitiram separar duas formas de NSILA a NSILAs (solúvel em etanol) e a NSILAp (precipita). Por sua vez a NSILAs foi identificada como constituída por dois polipéptidos, os factores de crescimento insulínico (FCI-I e FCI-II).

Recentemente foi identificado o FCI-I com a somatomedina C.⁴⁷

Ainda se verificou que a actividade mitogénica da somatomedina B era devida a contaminação da substância purificada por FCE, de modo que hoje pensa-se que a Stm B não existe.

Finalmente foi descrito um último factor, o MSA (multiplication stimulating activity) um mitogénio potente.

Podemos pois considerar a seguinte classificação deste grupo de factores:



No seu conjunto estas substâncias parecem fundamentais para a manutenção da integridade celular, ficando as células aptas a captar informações necessárias ao seu crescimento e multiplicação.

a) *Somatomedina A*: antigamente chamada factor de sulfatação da cartilagem, em virtude de estimular a incorporação de sulfato nesta. É um péptido de peso molecular 7600, circulando no plasma ligado a uma proteína de transporte.

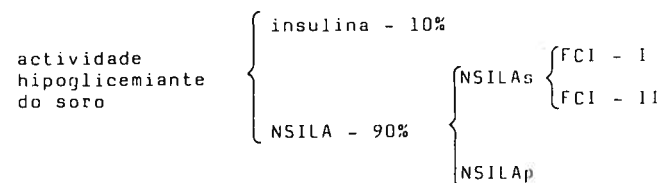
b) *MSA*: um péptido de PM = 14 500 ainda mal caracterizado. Inicialmente obtido a partir de fígado de rato, foi demonstrada a presença nos tecidos humanos. Assim descreveu-se a sua produção aumentada pelas células de um fibrosarcoma humano. É formado por uma única cadeia ainda não caracterizada. Circula no plasma ligado a uma proteína de elevado peso molecular. Une-se a receptores celulares específicos. Da sua acção resulta o estímulo da incorporação de timidina am ADN de fibroblastos e um potente efeito mitogénico.²¹

Em ratos diabéticos verificou-se que a descarboxilase da ornitina (DCO) estava diminuída no músculo. A sua actividade era restabelecida por insulina. Porém esta não actua directamente: a insulina induz o MSA, que por sua vez aumenta a formação de DCO. O estímulo de DCO é essencial para a síntese de poliaminas, necessárias para a replicação celular.²²

c) *NSILA*: quando uma preparação purificada de soro era utilizada na execução de um bioensaio para calcular a actividade insulínica, esta era avaliada pela sua acção hipoglicemiante. Mais tarde apareceu o radioensaio da insulina e verificou-se que a quantidade de insulina presente no soro era apenas 1/20 da quantidade calculada pelo bioensaio.⁵³ Mais tarde verificou-se que, neutralizando toda a insulina circulante com excesso de anticorpos anti-insulina, só era possível suprimir cerca de 10% da actividade hipoglicemiante.⁴³

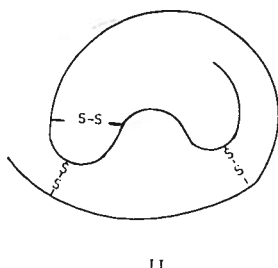
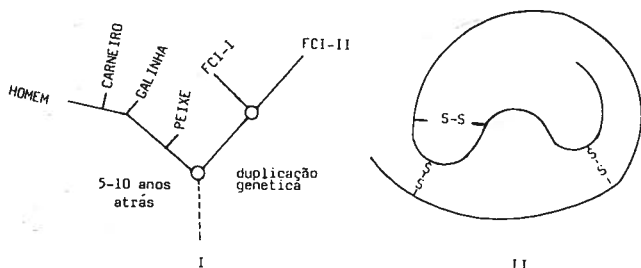
Daí utilizou-se a designação NSILA para o(s) factor(es) hipoglicemiante(s) existente(s) no soro normal. Mais tarde verificou-se que era possível separar duas NSILA: s (solúvel em etanol) e p (precipita). A NSILAs foi identificada com dois factores de crescimento, os FCI ou IGF (insulin growth factor).²³

Temos pois:



A NSILA é extraída do soro, pois nenhum órgão tem quantidades apreciáveis. A constituição dos FCI é hoje bem conhecida. Trata-se de dois polipéptidos. O FCI-I tem 70 aminoácidos e PM = 7649, ao passo que o FCI-II tem 67 aminoácidos e PM = 7471. A forma geral é semelhante à da proinsulina. De resto há uma acentuada homologia estrutural. Assim os resíduos 1 a 29 de FCI-I e 1 a 32 de FCI-II são semelhantes à cadeia B da insulina, os resíduos 42-70 e 41-67 de FCI-I e II são semelhantes à cadeia A. A conexão entre as duas cadeias é feita por um péptido intermédio mais

curto que o péptido C (12 e 8 aminoácidos contra 35 na proinsulina). Finalmente os FCI-I e II são 62% idênticos. De notar que as moléculas de FCI são activas nesta forma, não havendo separação do péptido de conexão. Ambos têm três ligações bissulfureto como a insulina.⁵⁰ (Fig. 6).



EFEITOS METABÓLICOS DOS FCI

Os FCI actuam sobre o tecido adiposo e sobre o músculo esquelético. As suas acções são de início rápido: estimula o transporte de glucose, a sua oxidação, a lipogénese, a síntese de glicogénio e de proteínas.

Injectados por via intravenosa são hipoglicemiantes.

Em culturas de células são mitogénicos e estimulam a incorporação de sulfato na cartilagem.

O estímulo da captação de glucose é 60 vezes menos potente que o da insulina e a afinidade para os receptores da insulina é bastante menor (290 vezes para o FCI-I e 75 vezes para o FCI-II).

Em relação à inibição de lipólise, eles são 50 e 100 vezes menos potentes respectivamente.

No músculo os FCI actuam através do seu receptor específico.⁴⁵ Na célula hepática há 50 vezes mais receptores para insulina que para os FCI.⁴² No adipócito o MSA actua no receptor de insulina mas os FCI têm receptores próprios.⁵³

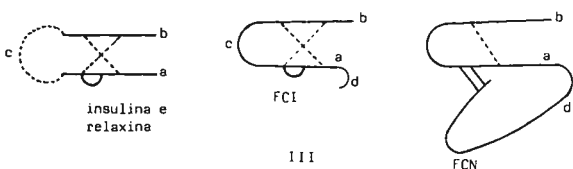
ACÇÕES EM CULTURAS DE TECIDOS

Em culturas de fibroblastos, os FCI estimulam a síntese de ADN, ARN, proteínas, DCO e multiplicação celular.

Na cartilagem estimulam a incorporação de sulfato em glucosaminoglicans e a de uridina no ARN. Estas acções são precedida pela sua união a receptores de alta afinidade. A insulina é 50 vezes menos potente como mitogénio e como factor de sulfatação. Os FCI são importantes na regulação do crescimento em espessura do osso, além dos efeitos sobre a cartilagem.⁴⁶

Enquanto que os alvos principais da insulina são o músculo e o tecido adiposo, em relação aos FCI eles parecem ser o crescimento celular e o metabolismo da cartilagem.

A insulina estimula as acções anabólicas no adipócito e os FCI estimulam estas acções nos tecidos em crescimento.



FORMAS CIRCULANTES DE NSILA

Um problema curioso consiste em saber por que razão a NSILA não causa hipoglicémia, nem impede a diabetes, uma vez que extraída do soro e injectada em animais produz efeitos semelhantes à insulina. Qual será então o seu papel biológico?

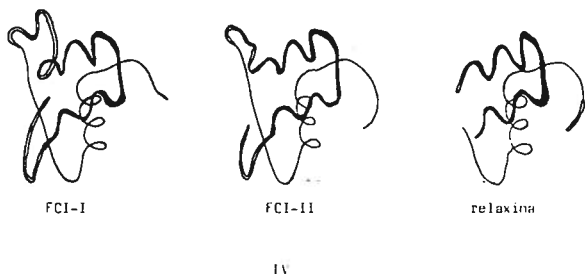
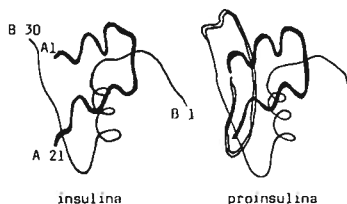
O soro contém uma proteína transportadora de alta afinidade, que o torna o principal depósito dos FCI.

Esta proteína é um tetrâmero de PM = 200 000, com 4 unidades iguais. Nenhuma hormona (incluindo a insulina) compete com os FCI para a ligação. Os FCI são necessários para induzir a polimerização das subunidades. Se se injectar FCI em excesso, por via intravenosa, ele sai dos capilares e penetra nos tecidos alvos causando efeitos agudos semelhantes aos da insulina. Os FCI ligados à proteína são biologicamente inactivos. No soro a concentração de FCI-II é 3 vezes maior que a de FCI-I.

NSILA p

Esta existe em quantidade apreciável no soro e não se liga ao transportador de FCI. O seu peso molecular é muito mais elevado (90 000).

Não há evidencia que seja um precursor dos FCI. O facto de não causar hipoglicémia leva a pensar que haja uma restrição da permeabilidade capilar



I - árvore evolucionária da insulina e dos factores de crescimento insulínico
 II - estrutura geral da proinsulina, FCI-I e FCI-II
 III - formas de estrutura distorcidas para comparação
 IV - formas cristalinas da insulina, FCI e relaxina

Tanto a NSILAs como a NSILAp protegem a insulina da degradação por proteases.⁴¹

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DOS FCI

Em doenças hipofisárias há alterações na concentração dos FCI. Assim no nanismo tipo Laron tem-se os valores mais baixos. Também os nanismos hipopituitários são acompanhados de diminuição da sua concentração. Ela aumenta nos acromegálicos.⁴⁰ Na cirrose hepática a concentração de FCI circulante diminui (o fígado é o principal ou talvez único órgão produtor). Em casos de diabetes a concentração média não está alterada, mas é sujeita a uma grande variação, ainda não compreendida.

A NSILAp aumenta moderadamente na gravidez e em vários cancros (non B cell tumor hypoglycemia) podendo ser responsável pela hipoglicémia que frequentemente acompanha os tumores malignos.⁴⁴

Takano et al⁵⁴ estudam a somatomedina A num grande número de casos e verificam que está baixa à nascença, sobe até á puberdade e tem uma baixa ligeira após os 40 anos. Três dias de jejum causa uma baixa para 65% do nível basal.

Elevada na acromegália, baixa após hipofisectomia completa ou após tratamento com bromocriptina. No hipopituitarismo sobe por administração de HC e apresenta uma correlação positiva com o crescimento.

Está diminuída na cirrose, hepatites e hepatomas. A tiroideia afecta-a, estando elevada no hipertiroidismo e diminuída no hipotiroidismo. Elevada em situações de urémia e diminuída na anorexia nervosa. Reduzida por acção da estreptozotocina em ratos, normaliza após administração de insulina.

Underwood e col.⁵⁵ num estudo semelhante sobre a somatomedina C verificam que está diminuída no sangue venoso do cordão umbilical, sobe rapidamente nos primeiros anos de vida, e estabiliza após a puberdade, fase em que atinge o valor máximo. É mais elevada no soro de mulheres que no de homens, eleva-se durante a gestação. Elevada nos casos de diabetes, em especial mal controlados. Aumenta na acromegália e diminui em casos de carência de HC. Nestes casos esta hormona normaliza rapidamente a STM-circulante.

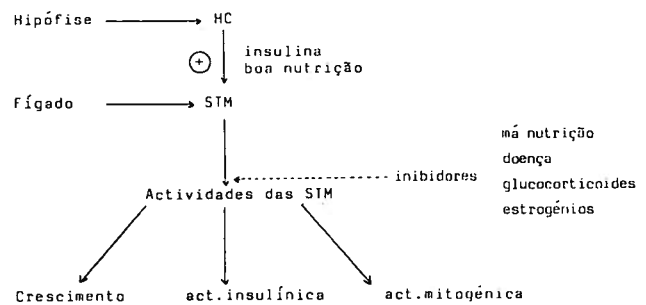
REGULAÇÃO DA ACTIVIDADE DAS SOMATOMEDINAS

Consideramos neste grupo a somatomedina A, o MSA, e os dois FCI. Embora os estudos actuais possam ser sujeitos a alteração podemos dizer que a regulação da sua actividade está dependente, em primeiro lugar da HC, em segundo lugar de factores vários, que incluem a presença de insulina, o estado de nutrição, a interferência de outras hormonas e a existência ou não de situações patológicas.

Assim em relação à HC verifica-se que no hipopituitarismo a administração de HC causa normalização de STM, ao passo que no nanismo Laron, isto não sucede. Finalmente a administração de HC em excesso leva a um aumento acentuado das STM.

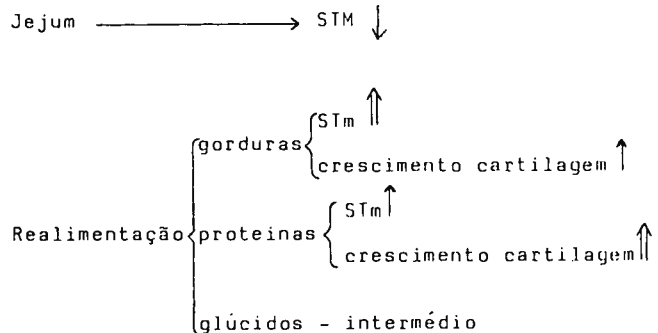
Péptidos como a prolactina e a somatomamotrofina placentária são menos activos que a HC na indução de STM.

A presença de insulina e de uma nutrição adequada são essenciais para que o fígado responda à HC com uma produção normal de STM. São inibidores uma má nutrição, uma doença sistémica e hormonas como os glucocorticoides e os estrogénios.²⁴

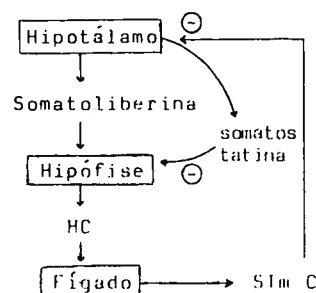


Em situações de deficiente nutrição as STM diminuem em circulação. Contudo a realimentação é acompanhada de respostas variáveis, consoante o tipo de alimento: se o alimento principal é constituído por gorduras, há um grande aumento das STM circulantes, mas o crescimento da cartilagem é diminuto.

Se o alimento principal é proteico, o aumento das STM é diminuto e o crescimento da cartilagem é mais acentuado. Com uma dieta rica em glúcidos, obtêm-se efeitos intermédios.²⁵ Finalmente na diabetes, há uma acentuada baixa de somatomedinas, que é normalizada por acção da insulina.



Estudos recentes permitem concluir que a somatomedina C (ou seja o FCI-I) medeia o retrocontrolo negativo da produção de HC, tanto no hipotálamo como na hipófise, através do estímulo da libertação de somatostatina no hipotálamo.²⁶



Na diabetes transitória neonatal aparece hiperglicémia e glicosúria em crianças pequenas, entre a 1.^a e a 6.^a semanas de idade. É possível que a desnutrição intrauterina cause baixa do FCI-I. A situação é rapidamente normalizada por administração de insulina.²⁷

COMPARAÇÕES ESTRUTURAIS

Como vimos, existem semelhanças entre a insulina, os factores de crescimento insulínico, o factor de crescimento nervoso e ainda uma outra hormona, a relaxina.

A relaxina é produzida fundamentalmente na placenta e corpo lúteo da mulher grávida. A sua principal acção descrita até há pouco consistia no relaxamento da sínfise púbica durante o parto. Este efeito deriva da activação de duas proteases lisosómicas: a catépsina B e a dipeptidil-peptidase.⁵⁷ Contudo ela parece ter uma acção activadora do metabolismo dos órgãos reprodutores, do tipo insulínico, actuando sobre receptores específicos. Estimula a deposição de glicogénio e o crescimento uterino,⁵⁸ inibe as contracções espontâneas do útero e estimula o desenvolvimento da glândula mamária.²⁸

Todas estas hormonas têm 3 domínios (A, B e C) na sua estrutura, embora na forma activa apenas a relaxina partilhe com a insulina a estrutura em cadeia dupla. O FCI-I é semelhante em 50 % à insulina, a relaxina em 24 % e o FCN em 28 %. O relacionamento dos restantes entre si é menor (excepto entre o FCI e a relaxina = 25 %). Isto leva a pensar numa família de péptidos originários de um parente comum do qual se diferenciaram por mutações que lhes conferiram propriedades algo diferentes embora complementares.

No FCI-I e no FCN é de notar o aparecimento de um 4.º segmento que provavelmente reflecte uma parte do gene estrutural que foi conservada nestes casos e reprimida nos dois restantes.⁴⁸

FACTOR DE CRESCIMENTO RELACIONADO COM O COBRE (GHL)

Recentemente foi descrito um tripéptido plasmático, GHL, (glicina-histidina-lisina) que, quando adicionado a culturas de tecidos, origina respostas diversificadas que vão do estímulo do crescimento a manifestações de toxicidade. Ele é isolado com concentrações equimoleculares de cobre e cerca de 1/5 de ferro.

Os seus efeitos máximos notam-se em cultura de células de hepatoma, desde que se adicionem cobre e ferro ao meio.²⁹

Vários péptidos contendo a ligação histidina-lisina são quase tão activos. Sugere-se que possam actuar no transporte de cobre.

As principais acções descritas em cultura de tecidos são:

- estímulo do crescimento de células de hepatoma
- de células foliculares tiroideias
- de linfócitos e de neurónios
- de eosinófilos, células endometriais e fibroblastos
- de rim e fígado
- inibe o crescimento de células gliais.

FACTORES DE CRESCIMENTO HEMATOPOIÉTICOS

As células circulantes são produzidas continuamente a partir de populações de células indiferenciadas (stem cells) da medula óssea. É necessária uma proliferação e diferenciação muito cuidadosamente controlada.

A ideia hoje é que cada estágio da hematopoiese está sujeito a mecanismos reguladores específicos, através de moduladores humorais, que na sua maioria são glicoproteínas de PM = 20 000 a 50 000, muitas das quais são produzidas por outras células hematopoéticas.

Em 1960 a utilização de sistemas de cultura semisólidos permitiu estudar a formação in vitro de colónias a partir de células progenitoras.⁴⁹

A formação de colónias depende de factores humorais específicos (F.C. hematopoéticos).

Uma célula primitiva pluripotente na presença de uma glicoproteína de PM = 40 000 dá origem à célula precursora de eritrócitos, megacariócitos, eosinófilos, neutrófilos/monócitos.

A diferenciação eritroide requer dois factores:

- factor formador de grandes colónias (do linfoblasto T)
- factor formador de pequenas colónias mais diferenciadas (este é a eritropoietina, glicoproteína de PM = 45 000).

A diferenciação de megacariócitos requer factores do soro de origem linfocitária e também eritropoietina.

A diferenciação de eosinófilos requer um factor proveniente dos linfócitos.

A diferenciação de neutrófilos/monócitos depende de vários factores: fibroblastos produzem um factor estimulador de colónias de monócitos, ao passo que linfócitos T produzem um factor que estimula a formação de colónias de ambos.

Finalmente os linfócitos formam colónias na presença de numerosos factores. Entre outros a timopoietina que estimula a formação de células T, ao passo que a ubiquitina estimula a formação de células T e de células B.

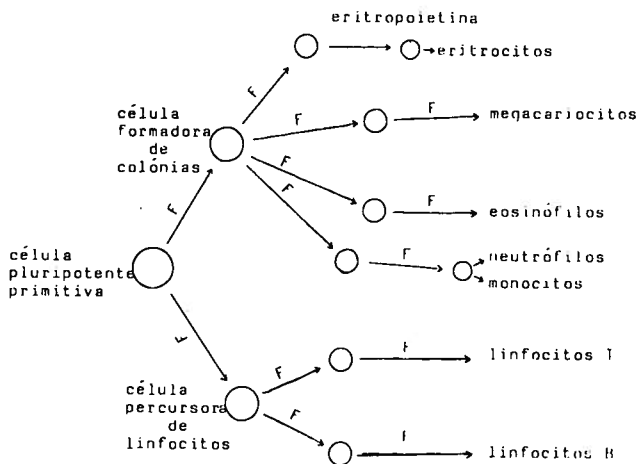


Figura 7: Diferenciação das células hematopoéticas a partir da célula primitiva pluripotente. Cada transformação requer pelo menos um factor.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A endocrinologia do futuro terá de contar com um campo de acção muito mais vasto do que se poderia prever há alguns anos. Contribuem para este facto vários factores, tais como o aparecimento de uma multiplicidade de substâncias moduladoras, que são factores de crescimento, por outro a verificação da acção intracelular da maioria das hormonas peptídicas, transformáveis nos lisosomas em substâncias com acções fisiológicas completamente diversas das da hormona intacta em circulação. A descoberta de um número incalculável de factores de crescimento hematopoiético que regulam precisamente cada etapa da diferenciação das diversas linhagens celulares, desde a célula indiferenciada primitiva até às células sanguíneas funcionais, faz prever que existam substâncias semelhantes na regulação do crescimento e diferenciação de todos os outros tecidos.

Assume-se assim o panorama de um sistema de regulação altamente sofisticado, que provavelmente permitirá prever disendocrinias antes de elas se manifestarem clinicamente, o que nos leva a pensar que no futuro a Endocrinologia será fundamentalmente uma especialidade dirigida ao estudo do homem normal, prevenindo desregulações e não dirigida ao indivíduo doente, já em situações muitas vezes difíceis de resolver.

Também em certos problemas como a aterosclerose e o cancro, o conjunto de péptidos reguladores já conhecidos e eventualmente a conhecer no futuro poderá implicar uma atitude completamente diferente da actual. Haja em vista a produção exagerada de factores de crescimento por células tumorais, caso da NSILA produzida em fibrosarcomas ou do factor de crescimento nervoso na neurofibromatose de Recklinghausen.

As implicações dos factores de crescimento hematopoiéticos nas hemopatias malignas começam a ser discutidas, em especial no que respeita à policitemia e às leucemias mieloides agudas.

A relação entre o factor produzido nas plaquetas e a aterosclerose ou a fibrose medular também começa a ser considerada.

Cabe ao futuro, numa altura em que os conhecimentos sobre estes factores estejam alargados, e em que haja métodos práticos para o seu doseamento, dizer-nos qual a verdadeira importância deste novo campo da fisiopatologia.

BIBLIOGRAFIA

- GOSPONDAROWICZ, D.; MORAN, J.: Growth factors in mammalian cell cultures. *Ann. Rev. Biochem.* 1976; 45: 531.
- KOLATA, G.: Polypeptide hormones: what are they doing in cells? *Science.* 1978; 201: 895.
- GORDEN, P.; CARPENTIER, J.; FREYCHET, P.; OREI, L.: Internalization of polypeptide hormones. *Diabetologia.* 1980; 18: 263.
- KING, A.; QUATRECASES, P.: Peptide hormone induced receptor mobility, aggregation and internalization. *New England J. Med.* 1981; 305: 77.
- MURPHY, R.; PANTAZIS, N.; PAPANASTAVROS, M.; ANDERSON, E.: Epidermal growth factor in the submandibular gland and serum of mice with muscular dystrophy: chemical properties in dilute gland extracts. *Endocrinology.* 1979; 105: 716.
- HOPKINS, C.: Epidermal growth factors and mitogenesis. *Nature.* 1980; 386: 205.
- HELDIN, C.; WASTESON, A.: Somatomedin B: mitogenic activity derived from contaminant epidermal growth factor. *Science.* 1981; 213: 1122.
- PRUSS, R.; HERSCHMAN, H.: Variants of 313 cells lacking mitogenic response to epidermal growth factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977; 74: 3919.
- SHOYAB, M.; TODARO, G.: Vitamin K₃ (Menadione) and related quinones, like tumor promoting phorbol esters, alter the affinity of epidermal growth factor for its membrane receptor. *J. Biol. Chem.* 1980; 255: 8735.
- CASTOR, W.; GEARD, S.; HOSSLER, P.; KELCH, R.: Connective tissue activation XXII. Platelet growth factor. *J. Clin. Endoc. Metab.* 1981; 52: 128.
- SCHER, C.; STONE, M.; STILES, C.: Platelet derived growth factor prevents G₀ growth arrest. *Nature.* 1979; 281: 390.
- KAPLAN, D.; CHAO, F.; STILES, C.; ANTONIADES, H.; SCHER, C.: Platelet α granules contain a growth factor for fibroblasts. *Blood.* 1979; 53: 1043.
- MONTALCINI, R.; CALISSANO, P.: Le facteur de croissance du nerf. *Pour la science*, Agosto de 1979, n.º 22, p. 12.
- MAC DONNELL, P.; TOLSON, N.; GUROFF, G.: Selective de novo synthesis of tyrosine hydroxylase in organ cultures of rat superior cervical ganglia after in vivo administration of nerve growth factor. *J. Biol. Chem.* 1977; 252: 5859.
- BJORKLUND, A.; STEVENI, U.: Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurons in the mammalian central nervous system. *Phys. Rev.* 1979; 59: 62.
- MOBLEY, W.; SERVER, A.; ISHII, D.; RIOPELLE, R.; SHOOTER, E.: Nerve Growth Factor. *The N. England J. Med.* 1977; 297: 1096.
- ANGELETTI, P.; ATTARDI, D.; TOSCHI, G.; SALVI, M.; MONTALCINI, R.: Metabolic aspects of the effect of nerve growth factor on sympathetic and sensory ganglia: protein and ribonucleic acid synthesis. *Biochem. Biophys. Acta.* 1965; 95: 111.
- BRADSHAW, R.; YOUNG, M.: Nerve growth factor. Recent developments and perspectives. *Biochem. Pharmac.* 1976; 25: 1445.
- STACH, R.; WAGNER, B.; STACH, B.: A more rapid method for the isolation of the 7 S nerve growth factor complex. *Analytical Biochem.* 1977; 83: 26.
- BERGER, E.; SHOOTER, E.: Evidence for pro-B-nerve growth factor, a biosynthetic precursor to B-nerve growth factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977; 74: 3647.
- MARQUARDT, H.; WILSON, G.; TODARO, G.: Isolation and characterization of a multiplications-stimulating activity (MSA)-like polypeptide produced by a human fibrosarcoma cell line. *J. Biol. Chem.* 1980; 255: 9177.
- CONOVER, C.; ROZOVSKI, S.; RUDERMAN, N.: Regulation of ornithine decarboxylase in skeletal muscle. *Diabetes.* 1981; 30: 678.
- ZAPF, J.; RINDERKNECHT, E.; HUMBEL, R.; FROESCH, E.: Insulin like growth factors from human serum in «Diabetes Mellitus» vol I, p. 261, 1981. Garland Press, N.Y.
- PHILLIPS, L.; SELLIN, R.: Somatomedins N. England. *J. Med.* 1980; 302: 438.
- PHILLIPS, L.; SELLIN, R.: Nutritional regulation of somatomedin. *Am. J. Clin. Nutr.* 1979; 32: 1082.
- BERELOWITZ, M.; SZABO, M.; FROHMAN, L.; CHU, L.: Somatomedin C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary. *Science.* 1981; 212: 1279.
- BLETHERN, S.; WHITE, N.; SANTIAGO, J.; DAUGHADAY, W.: Plasma somatomedins, endogenous insulin secretion and growth in transient neonatal diabetes mellitus. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1981; 52: 144.
- BRADSHAW, R.; NIALL, H.: Insulin related growth factors. *TIBS.* 1978; 5: 274.
- PICKART, L.; FREEDMAN, J.; LOKER, M.; PEISACH, J.; PERKINS, C.; STENKAMP, R.; WEINSTEIN, B.: Growth modulating plasma tripeptide may function facilitating copper uptake into cells. *Nature.* 1980; 288: 715.
- LAKSHMANAN, J.: Nerve growth factor induced phosphatidylinositol turnover, effect of 6-hydroxydopamine treatment. *FEBS Letters.* 1978; 92: 159.

31. MERCANTI, D.; BUTLER, R.; REVOLTELLA, R.: A tryptic digestion fragment of nerve growth factor with nerve growth promoting activity. *Biochem. Biophys. Acta.* 1977; 196: 412.
32. WILSON, W.; SHOOTER, E.: Structural modification of the NH₂ terminus of nerve growth factor. *J. Biol. Chem.* 1979; 254: 6002.
33. STACH, R.; STACH, B.; WEST, N.: Nerve fiber outgrowth from dorsal root ganglia: ion dependence of nerve growth factor action. *J. Neurochemistry.* 1979; 33: 845.
34. FRAZIER, W.; BOYD, L.; BRADSHAW, R.: Properties of the specific binding of ¹²⁵I-Nerve Growth factor to responsive peripheral neurons. *J. Biol. Chemistry.* 1975; 245: 5513.
35. OLENDER, E.; STACH, R.: Sequestration of ¹²⁵I-labeled B Nerve growth factor by sympathetic neurons. *J. Biol. Chem.* 1980; 255: 9338.
36. COSTRINI, N.; KOGAN, M.; KUKREJA, K.; BRADSHAW, R.: Physical properties of the detergent-extracted nerve growth factor receptor of sympathetic ganglia. *J. Biol. Chem.* 1979; 254: 11242.
37. SHIGEHICO, N.; FUJITA, I.: Stimulatory effects of substance P and Nerve Growth Factor on neurite outgrowth in embryonic chick dorsal root ganglia. *J. Neuropharmacology.* 1978; 17: 73.
38. SCHUBERT, D.; WHITLOCK, C.: Alteration of cellular adhesion by nerve growth factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977; 74: 4055.
39. BARDE, Y.; LINDSAY, R.; MONARD, D.; THOENEN, H.: New factor released by cultured glioma cells supporting survival and growth of sensory neurones.
40. CLEMMONS, D.; JUDSON, M.; WYK, J.; RIDGWAY, E.; KLIMAN, B.; KJELLBERG, R.; UNDERWOOD, L.: Evaluation of acromegaly by radioimmunoassay of somatomedin C. *N. Engl. J. Med.* 1979; 301: 1138.
41. BURGHEIN, G.; DUCKWORTH, W.; KITABACHI, A.; SOLOMON, S.; POFFENBERGER, P.: Inhibition of insulin degradation by nonsuppressible insulin-like activity. *J. Clin. Invest.* 1976; 57: 1089.
42. MEGYESI, K.; KAHU, R.; ROTH, J.: The NSILAs receptor in liver plasma membranes. *J. Biol. Chem.* 1975; 250: 8990.
43. SHIELDS, R.: Growth hormones and serum factors. *Nature.* 1977; 267: 308.
44. PLOWWICH, H.; RUDERMAN, N.; AOKI, T.; CHIDECHEL, E.; POFFENBERGER, P.: Non B cell tumor hypoglycemia associated with increased nonsuppressible insulin like protein. *Am. J. Medicine.* 1979; 66: 154.
45. POGGI, C.; BRUSTEL, Y.; ZAPF, J.; FROESCH, R.; FREYCHET, P.: Effects and binding of insulin-like growth factor I in the isolated soleus muscle of lean and obese mice: comparison with insulin. *Endocrinology.* 1979; 105: 723.
46. CANALIS, E.: Effect of IGF-I on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *J. Clin. Invest.* 1980; 66: 709.
47. RECHLER, M.; EISEN, H.; HIGA, O.: Characterization of a somatomedin synthesized by fetal rat liver organ cultures. *J. Biol. Chem.* 1979; 254: 7942.
48. BRADSHAW, R.: Nerve growth factor. *Ann. Rev. Biochem.* 1978; 47: 191.
49. GOLDE, D.: Growth Factors. *Ann. Int. Med.* 1980; 92: 650.
50. HUMBEL, R.; ANDRESS, R.; ERNEST, C.; HASELBACHER, G.; RUNDERKNECHT, E.; WILSON, K.: Insulin like growth factors: homology to insulin. *Diabetes*, 1979, Ed. Werner Waldhaus Excerpta Médica, Amsterdam 1980; 254.
51. HALL, K.; SARA, V.; ENBERG, G.; FRYKLUND, L.: *Ibidem*, p. 249.
52. RECHLER, M.: Receptors for somatomedins and related peptides: *ibidem* 266.
53. FROESCH, R.; SCHOENLE, E.; WALTER, H.; ZAPF, J.: Nonsuppressible insulin like activity of serum: *ibidem* 259.
54. TAKANO, K.; HIZUKA, N.; SHIMUZA, K.: Somatomedin levels by radioreceptor assay; *ibidem* 272.
55. UNDERWOOD, L.; COPELAND, K.; CLEMMONS, D.; CHATELAIN, P.; BLETHEN, S.; VAN WYCK, J.: Radioimmunoassay of somatomedin C Clinical applications: *ibidem* 278.
56. EISENBARTH, G.; DREZNER, M.; LEBOWITZ, H.: Inhibition of condromucoprotein synthesis: an extraneuronal effect of nerve growth factor. *J. Pharm. Exp. Therap.* 1975; 192: 630.
57. McDONALD, J.; SCHWABE, G.: Relaxin induced elevations of cathepsin B and dipeptidyl peptidase I in the mouse pubic symphysis. *Ann. N.Y. Ac. Sc.* 1982; 380: 178.
58. FRIEDEN, E.; VASILENCO, P.; ADAMS, W.: Effects of porcine relaxin in cycling and pregnant rats. *Ann. N.Y. Ac. Sc.* 1982; 380: 174.

Pedido de separatas: Carlos Manso
Centro de Metabolismo
e Endocrinologia, INIC
Faculdade de Medicina de Lisboa
1600 Lisboa - Portugal