

SOMATOMEDINE/FATTORI DI CRESCITA INSULINO-SIMILI (IGFs): CARATTERISTICHE CHIMICHE E FUNZIONALI

Stefania CAIOLA, Nicolina DI BIASE e Angela Maria BUONGIORNO

Reparto di Immunometria, Laboratorio di Biochimica Clinica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - *I fattori di crescita insulino-simili (IGFs) sono fattori di crescita di natura polipeptidica al cui isolamento e caratterizzazione si giunse intorno alla metà degli anni settanta. Essi sono coinvolti nella attività mitogena e nei processi anabolici di molti tessuti, inoltre presentano una stretta omologia strutturale con la proinsulina. Le due principali forme identificate nell'uomo sono l'insulin-like growth factor I (IGFI) e l'insulin-like growth factor II (IGFII). L'IGFI possiede una notevole azione di stimolo della crescita e le sue concentrazioni plasmatiche sono dipendenti dall'ormone della crescita (GH). L'IGFII è un peptide a struttura primaria e terziaria molto simile a quella dell'IGFI; le sue concentrazioni plasmatiche sembrano essere poco influenzate dal GH e presenta una attività insulino-simile più spiccata rispetto all'IGFI. E' scopo di questo lavoro cercare di proporre una sintesi delle recenti acquisizioni concernenti la produzione, la fisiologia ed il significato clinico di questi peptidi nell'uomo ed in particolare durante la gravidanza in pazienti normali e diabetiche.*

PAROLE CHIAVE: fattori di crescita insulino-simili (IGFs), ormone della crescita (GH), somatomedine, gravidanza, diabete, crescita postnatale, fisiologia.

Summary (The somatomedins/insulin-like growth factors: properties and actions). - *The insulin-like growth factors constitute a family of peptides which have structural homology with proinsulin, and which possess broad anabolic and mitogenic action in wide variety of tissues. The two main forms of IGFs in serum of adults are insulin-like growth factor I (IGFI) and insulin-like growth factor II (IGFII). IGFI appears to be the major growth factor involved in postnatal growth and is believed to mediate most (if not all) of the growth promoting effects of growth hormone (GH). IGFII may be involved in embryonic and fetal growth. It is the aim of this article to present an*

account of recent advances in the understanding of the origins, functions, and clinical significance of these peptides. Particularly the role of IGFs in fetal growth during normal and diabetic pregnancies.

KEY WORDS: insulin-like growth factors (IGFs), growth hormone (GH), somatomedins, pregnancies, diabetes, physiology, postnatal growth.

Introduzione

Con questo lavoro, propedeutico a quello sperimentale si è inteso fare il punto su di un argomento che ha suscitato e suscita tuttora interesse nei ricercatori per i risvolti diagnostici e terapeutici che le somatomedine potrebbero avere in alcune complicanze afferenti alla patologia diabetica.

Circa quindici anni fa sono stati isolati dal plasma umano alcuni fattori di natura polipeptidica che si distinguevano per la loro diversa attività biologica. Alcuni stimolavano l'incorporazione di solfato nel condroitin solfato della cartilagine [1], altri presentavano una attività insulino-simile non neutralizzata da anticorpi antinsulina sul tessuto adiposo e muscolare, ed altri ancora aumentavano l'incorporazione di timidina nel DNA di vari tessuti [2]. In base a queste attività tali fattori furono denominati rispettivamente sulphatio factor activity (SFA), non suppressible insulin-like activity (NSILA) e multiplication stimulating activity (MSA). Nel 1972 Daughaday *et al.* scoprirono alcuni fattori biochimici capaci di mediare l'azione dell'ormone somatotropo (GH) e per questo furono chiamati somatomedine. Esse, infatti, stimolavano *in vitro* l'incorporazione di solfato nei proteoglicani della cartilagine; tale effetto scompariva dopo ipofisectomia e veniva ripristinato solo con la somministrazione di GH *in vivo* (non *in vitro*). Tale scoperta portò i ricercatori ad affermare che il GH non agiva direttamente sulla cartilagi-

ne, ma la sua azione era mediata da altri fattori di crescita prodotti a livello tissutale in risposta ad un suo stimolo [4]. Studi sulla caratterizzazione biochimica delle somatomedine portarono alla identificazione di due diverse forme chimiche: una neutra detta somatomedina A (SMA), ed una basica detta somatomedina C (SMC) [5, 6].

Prima dell'avvento delle tecniche radioimmunologiche (RIA) la concentrazione plasmatica di insulina veniva misurata attraverso la valutazione *in vitro* della captazione di glucosio da parte di frammenti di tessuto adiposo di epididimo o diaframma di ratto. Determinazioni successive rivelarono che solamente il 10% circa dell'attività insulinica totale misurata con questa procedura corrisponde all'insulina di origine pancreatica dosata con le tecniche RIA. Infatti, la rimanente quota di insulina circolante persiste anche in seguito a pancreatectomia o alla precipitazione dell'insulina con anticorpi specifici, per questo è stata denominata "attività insulino-simile non sopprimibile" (non suppressible insulin-like activity NSILA).

Studi successivi confermarono che entrambe le somatomedine erano dotate anche di non suppressible insulin-like activity (NSILA) e multiplication stimulating activity (MSA). Nel 1976 Rinderknecht e Humbel a loro volta isolarono dal plasma umano due peptidi che oltre ad avere un'azione stimolante la crescita tissutale possedevano una attività insulino-simile (NSILA) e li chiamarono insulin-like growth factors (IGF-I e IGF-II) [1].

In seguito fu dimostrato che la SMC era identica all'IGFI e che la SMA era una forma deaminata di IGFI oppure una miscela di IGFI e IGFII [7, 8]. Attualmente i termini di insulin-like growth factor I (IGFI) e insulin-like growth factor II (IGFII) vengono utilizzati per indicare le due forme principali di questi fattori di crescita presenti nel sangue. Mentre il termine somatomedine non è più in uso in seguito alla scoperta che solo la produzione di IGFI è regolata dal GH.

Il nostro interesse per questi peptidi deriva dal fatto che essi, oltre che nelle patologie riguardanti l'accrescimento, sono stati studiati anche nella malattia diabetica, ed in particolare, nella gravidanza complicata da diabete [9, 10]. Partendo dal presupposto della stretta omologia strutturale tra le IGFs e l'insulina e quindi della eventuale interazione di questi peptidi a livello recettoriale, ci siamo chiesti quanto l'IGFs avessero potuto incidere sull'accrescimento fetale in nati di madre diabetica.

Si è ipotizzato che l'insulina sia un fattore di crescita fetale perché l'iperinsulinemia intrauterina porta a macrosomia e a obesità fetale, al contrario, una carenza o una resistenza all'insulina durante la vita fetale portano ad un ritardo di crescita [11]. Sebbene l'insulina sia secreta dal pancreas fetale approssimativamente dalla 12^a settimana di gestazione e i tessuti fetali mostrino una aumentata incorporazione di aminoacidi e sintesi proteica quando esposti all'insulina, non si sa ancora se l'insulina sia effettivamente un fattore di crescita, se agisca in modo permissivo per mantenere un ambiente omeostatico favorevole, oppure se aumenti la crescita fetale stimolando la produzione di IGFs. Nel corso di questo lavoro, sulla base di quanto presente in letteratura e della nostra esperienza, cercheremo di dare una risposta a questi quesiti.

Isolamento e caratterizzazione

L'IGFI è un peptide basico, composto da una singola catena polipeptidica di 70 aminoacidi con peso molecolare di 7649 Da contenente tre ponti disolfuro [5]. Possiede una notevole azione di stimolo della crescita e le sue concentrazioni plasmatiche sono GH dipendenti [12, 13]. L'IGFII è un peptide debolmente acido con una struttura primaria e terziaria molto simile a quella dell'IGFI, e composto da 67 aminoacidi ed ha un peso molecolare di 7471 Da [6], le sue concentrazioni plasmatiche sembrano essere poco influenzate dal GH, mentre presenta un'attività insulino-simile più spiccata rispetto all'IGFI [14]. Entrambi i peptidi hanno una stretta omologia strutturale con la proinsulina; le catene A e B con i ponti disolfuro della proinsulina si ripetono sia nell'IGFI che nell'IGFII, mentre il peptide C di connessione tra le catene A e B della proinsulina è rappresentato nei due peptidi da una più piccola sequenza aminoacidica. Inoltre l'IGFI e l'IGFII presentano una estensione carbossiterminale della catena A, chiamata regione D, costituita da 8 aminoacidi in IGFI e da 6 aminoacidi in IGFII che non è presente nella proinsulina (Tab. 1).

La recente caratterizzazione dei geni che codificano l'IGFI e IGFII ha permesso la comprensione della loro organizzazione molecolare e della loro regolazione in molte specie animali. Il gene dell'IGFI, costituito da almeno 5 esoni, occupa una regione di circa 90 Kbsi localizzata nel braccio lungo del cromosoma 12. Il gene è espresso in almeno due forme di mRNA, una che si forma a partire dagli esoni 1, 2, 3 e 5, e l'altra che si forma dagli esoni 1, 2, 3 e 4 a seconda dei possibili tagli effettuati a livello del trascritto primario. Questi due mRNA codificano le due molecole precursori dell'IGFI (rispettivamente IGFIa e IGFIb), che differiscono unicamente in una regione carbossiterminale, non presente nella molecola dell'IGFI "matura".

Il gene dell'IGFII è, invece, localizzato sul braccio del cromosoma 11, a 1.7 Kbsi dal gene dell'insulina, ed è costituito da 7 esoni che occupano una regione di circa 40 Kbsi. Dalla trascrizione dell'mRNA si produce una preproIGFII di circa 180 aa, dei quali i primi 24 costituiscono il peptide segnale, la parte centrale della IGFII "matura"; circa la sequenza terminale di 89 aa, che si perde durante il trasferimento del peptide nelle cisterne di Golgi e simile a quella delle IGFs, ancora non se ne conosce la funzione. Entrambe le IGFs derivano da unità trascrizionali altamente complesse, che nel caso delle IGFII, coinvolgono promotori multipli regolati in maniera differente. È stata scoperta un'ampia eterogeneità dell'mRNA per i diversi punti di giunzione e per l'impegno alternativo di esoni nelle sequenze delle preproIGFs.

L'IGFI e l'IGFII esplicano la loro attività biologica legandosi a due diversi tipi di recettori di membrana [15, 16]. L'IGFI ha recettori simili a quelli dell'insulina chiamati recettori di Tipo I, essi hanno una struttura tetramericata composta da due subunità alfa dove è situato il sito di legame, e due subunità beta dotate di attività tirosinochinase unite da una catena disolfuro [15]. L'IGFII ha

Tabella 1. - *Caratteristiche chimiche e biologiche dell'insulina e dell'IGFI e IGFII*

	Insulina	IGFI	IGFII
Peso molecolare	5800	7649	7471
Aminoacidi	51	70	67
Ponti disolfuro	3	3	3
Punto isoelettrico	5.3	8.5	6.2
Attività metabolica	++	+	+
Attività mitogena	+	++	++
Sintesi	pancreas	cellule periferiche	cellule periferiche

invece maggiore affinità con un recettore a catena singola che non interagisce con l'insulina chiamato recettore di Tipo 2, che è formato da una singola catena proteica contenente un ponte disolfuro [16] (Fig. 1). L'elevato grado di omologia tra la struttura primaria dell'insulina l'IGFI e l'IGFII, e le analogie tra la loro struttura terziaria fanno sì che i due peptidi possano interagire con il recettore insulinico e l'insulina stessa si possa legare al recettore delle IGFs [17].

Siti di produzione

Al contrario dell'insulina, l'IGFI e l'IGFII non vengono prodotte da ghiandole endocrine. Ricerche effettuate [18] indicano nel fegato la maggior fonte di produzione, ma anche i fibroblasti, così come alcuni tessuti embrionali, pare abbiano un ruolo significativo nella produzione dell'IGFI [19]. Elevate concentrazioni di IGFs sono state riscontrate in alcuni liquidi biologici: l'IGFI è presente nel latte umano e nel liquido seminale [20, 21]; l'IGFII nel liquido follicolare dell'ovaio e nel liquido amniotico [22, 23]. I peptidi prodotti dal fegato vengono immessi nel torrente circolatorio ed agiscono a distanza come ormoni endocrini [24]. Come abbiamo già visto la produzione di IGFs non è limitata al fegato, altri tessuti sono capaci di sintetizzare questi peptidi ed in particolare l'IGFI, ciò suggerisce che tali ormoni svolgano la loro azione anche attraverso un meccanismo paracrino (il sito di azione è situato nel tessuto circostante quello di produzione dell'ormone) ed autocrino (il sito di azione è situato all'interno della stessa cellula che produce l'ormone), per cui i livelli tissutali di IGFs potrebbero avere una importanza fisiologica maggiore di quelli circolanti [25].

Livelli ematici

I livelli ematici delle IGFs sono relativamente stabili durante la giornata ma subiscono importanti modificazioni nelle diverse epoche di vita. Le concentrazioni plasmatiche

di IGFI sono basse alla nascita, aumentano gradualmente durante l'infanzia fino a raggiungere un picco alla pubertà per stabilizzarsi intorno ai 180 ng/ml nei giovani adulti (20-30 anni) e poi decrescere con l'avanzare dell'età. Diverso l'andamento dell'IGFII le cui concentrazioni sono basse alla nascita, aumentano durante il primo anno di vita fino a raggiungere i livelli dell'adulto di 600-800 ng/ml e diversamente dall'IGFI non diminuiscono con l'età [26].

La produzione delle IGFs è regolata da vari fattori di stimolo, tra questi il principale è rappresentato dal GH [27-29]. La somministrazione di GH in soggetti normali determina, a distanza di 4-6 ore, un notevole aumento delle concentrazioni di IGFI, mentre l'IGFII è scarsamente influenzato da questo ormone. La produzione del GH, a sua volta, è regolata dall'IGFI con meccanismo di feedback negativo. L'IGFI, infatti, stimola il rilascio di somatostatina dall'ipotalamo e agisce direttamente sull'ipofisi bloccando l'azione del growth hormone releasing (GRH) [30]. I meccanismi che regolano la produzione di IGFII non sono ancora ben conosciuti, inoltre questo peptide non risulta essere GH dipendente.

Diverso il comportamento di questi due peptidi nel feto [31]. Durante la vita intrauterina la produzione di IGFI non dipende dal GH il quale peraltro non sembra avere un ruolo nella crescita fetale. Feti anencefali hanno infatti un normale peso alla nascita e livelli circolanti di IGFI nella norma [32]. La sintesi di IGFs e l'accrescimento corporeo diventano dipendenti dal GH ipofisario tra il VI e il XII mese di vita [33]. In studi effettuati su feti di ratto i livelli di IGFI al 21° giorno di gestazione (prima della nascita) erano 5 volte più alti rispetto a dieci giorni dopo il parto anche se non al di sopra dei valori dell'adulto; i livelli di IGFII immediatamente prima del parto erano almeno 4 volte più alti rispetto ai livelli dell'adulto per poi diminuire a circa tre settimane dopo il parto [34]. Altri autori [35, 36] hanno riscontrato nel sangue del funicolo umano concentrazioni di IGFI circa la metà dei valori presenti nell'uomo adulto, correlati positivamente sia con il peso alla nascita che con l'età gestazionale. Non si conoscono invece con esattezza livelli di IGFII nel sangue del funicolo.

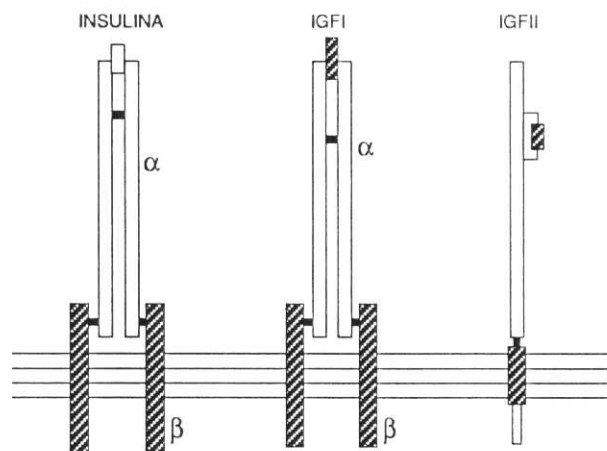


Fig. 1. - Rappresentazione schematica dei recettori per IGF I, IGF II e insulina.

Anche Bennett *et al.* [37] hanno riportato valori di IGF I nel sangue del feto più bassi rispetto agli adulti e significativamente correlati con il peso alla nascita e l'età gestazionale. Tali variazioni tra le fasi pre e perinatale di IGF I e IGF II, nei non primati, suggeriscono un coinvolgimento di queste nell'accrescimento fetale ed in epoca neonatale. Per quanto riguarda l'uomo attualmente i dati in nostro possesso non permettono di giungere ad una conclusione circa il ruolo svolto sull'accrescimento fetale da tali fattori di crescita ed in particolare dalle IGF II.

Fisiologia

Un particolare aspetto della fisiologia delle IGFs riguarda la loro struttura molecolare e l'interazione con specifiche proteine leganti (BPs), identificate da Zapf *et al.* [38], con le quali esse sono in circolo sotto forma di complessi ad elevato peso molecolare. Mentre la concentrazione plasmatica totale delle IGFs legate alle proteine vettrici (IGF-BPs) nel siero è di circa 1 µg/ml, i singoli peptidi in forma libera sono virtualmente assenti o sono presenti in concentrazioni minori dell'1%. Inoltre poiché non sono stati identificati tessuti di deposito per questi peptidi si ritiene che i complessi circolanti rappresentino essi stessi una forma di deposito. L'ipotesi che la barriera capillare abbia una ridotta permeabilità per il complesso IGF-proteine leganti suggerisce che il legame che le IGFs instaurano con le proteine serva anche a proteggere l'organismo dagli effetti insulino-simili di questi ormoni [39]. Il complesso ha una vita media di 3-18 ore mentre l'ormone libero ha una vita media di 20-30 minuti. Sono state identificate [40] due classi di proteine leganti: una è GH-dipendente, e forma un complesso con le IGFs chiamato 150K; questa proteina è considerata la principale forma di trasporto, infatti include il 75-80% dell'attività IGFs circolante. La seconda comunemente chiamata 45K ha un peso molecolare di 38-45 kDa, non sembra essere GH dipendente e trasporta la restante quota di IGFs circolante [26].

Le proteine di trasporto oltre ad influire sull'emivita delle IGFs determinano variazioni qualitative dipendenti dall'età; infatti, mentre la forma 45K predomina nella vita fetale e nel periodo neonatale, la forma 150K è predominante nell'adulto [33]. Il fatto che differenti classi di proteine leganti abbiano una diversa affinità per l'IGF I e l'IGF II suggerisce che esse abbiano specifiche e differenti funzioni nella regolazione dei vari effetti dell'IGFs [41]. Molto poco sappiamo circa la capacità che i vari complessi hanno di interagire con i recettori di membrana. Alcuni autori [42] hanno suggerito che il complesso 150K possa avere una attività biologica in forma indissociata, altri autori [43, 44] hanno proposto che i tessuti bersaglio possano possedere essi stessi il meccanismo per scindere il piccolo peptide dalla proteina vettrice e renderlo così attivo.

Azione biologica sui tessuti

Le IGFs esercitano la loro azione insulino-simile a livello del tessuto adiposo e muscolare legandosi al recettore insulinico; esse, inoltre, mediano un'azione differente dall'insulina per mezzo del legame al loro specifico sito recettoriale; stimolano il trasporto del glucosio, la lipogenesi, la glicogenosintesi, l'inibizione della lipolisi e della glicogenolisi [45].

L'azione mitogena, inizialmente descritta sui fibroblasti, è stata dimostrata in una larga varietà di cellule come mioblasti [46], beta cellule [47], linfociti attivati [48], cellule del cervello fetale [49] e cellule del Sertoli [30]. Alcuni autori [50, 51] hanno proposto che le IGFs, in particolare l'IGF I, possano agire amplificando il segnale di altri ormoni sia stimolando la differenziazione cellulare che la proliferazione [52, 53]. L'azione differenziatrice è stata studiata nelle cellule del Sertoli e nelle cellule della granulosa di ratto. E' stato dimostrato che l'IGF I agisce in modo sinergico con l'ormone stimolante la tiroide (TSH) stimolando la sintesi di DNA in colture di cellule di tiroide di ratto FRTL5 *in vitro*, e che l'azione proliferativa del TSH richiede la presenza di IGF I [54]. *In vivo* è stata dimostrata la presenza di IGF I e della sua proteina di trasporto in tessuto normale di tiroide, ed in concentrazioni elevate in noduli e tumori tiroidei [55].

Gravidanza e IGFs

Analogamente ad altre variazioni ormonali che si verificano durante la gestazione anche le IGFs sono influenzate dalla gravidanza. Studi longitudinali [56] hanno evidenziato un leggero declino dei livelli ematici di IGF I durante il primo e il secondo trimestre di gravidanza; nelle fasi successive della gestazione si assiste ad un progressivo aumento con un picco intorno alla 35°-36° settimana che si mantiene tale fino al termine della gravidanza; alcuni autori [57, 9] hanno riportato una media di valori di 280-320 ng/ml, circa il 50-130% più alti rispetto al gruppo

di controllo. Dopo il parto i livelli ematici di IGFI decrescono bruscamente per poi tornare lentamente ai livelli normali.

I livelli elevati di IGFI riscontrati durante la gravidanza in ratti ipofisectomizzati [58] ed in donne gravide con deficienza di GH suggeriscono che la produzione di tali peptidi durante il terzo trimestre di gravidanza non dipenda dal GH. Come è già noto, la produzione di GH materno è soppressa durante la seconda metà della gravidanza [59, 60]; ciò suggerisce che alcuni ormoni, probabilmente di origine placentare, possano regolare la secrezione delle somatomedine. Alcuni autori [10] hanno identificato tale sostanza nell'ormone lattogeno placentare (HPL), avendo riscontrato una correlazione positiva tra i livelli di HPL ed IGFI. Altri autori, in studi recenti [32], hanno caratterizzato un peptide con azione ormonale prodotto a livello placentare chiamato somatotropo (GH) placentare che andrebbe a sostituire il GH ipofisario temporaneamente soppresso durante la gravidanza. Le concentrazioni di questo peptide tra la 31° e 32° settimana di gravidanza sono correlate positivamente con le concentrazioni di IGFI mentre non vi è alcuna correlazione con l'HPL. Questo suggerisce che l'IGFI materno, nelle diverse età gestazionali, potrebbe essere dipendente dal GH placentare e non dall'HPL. Samaan *et al.* [10] suggeriscono infine che l'aumento dell'IGFI in gravidanza possa essere correlato all'aumento dell'insulinemia; durante la gravidanza, infatti, si assiste ad un progressivo incremento della secrezione di insulina in risposta ad un carico di glucosio o ad infusione di arginina. Come già detto, le concentrazioni di IGFI cadono bruscamente dopo il parto con un nadir al terzo giorno seguito da un lento e progressivo ritorno verso i livelli presenti nelle non gravide. Questo pattern bifasico ed i bassi valori trovati da Furlanetto *et al.* [57] e da Caufriez *et al.* [32] indicano che dopo il parto è necessaria una fase di latenza prima che si ripristini una normale funzione ipotalamo-ipofisi-fegato.

Diabete ed IGFI

Le IGFs, grazie alla larga diffusione di recettori specifici su diversi tessuti ed organi, presentano numerose attività biologiche. Inoltre, come già sottolineato, a causa della loro analogia strutturale con l'insulina, possono interagire con i recettori di questa sia a livello del tessuto adiposo che muscolare con azione insulino-simile. Per questo motivo tali peptidi sono stati studiati in alcune patologie inerenti a problemi dell'accrescimento ed in particolare nei soggetti diabetici.

La malattia diabetica specie se mal controllata comporta un ridotto accrescimento staturale; si ritiene inoltre che il GH, la cui azione è mediata dall'IGFI, possa essere implicato nella patogenesi della retinopatia diabetica [61].

Nella maggior parte degli studi condotti, è stato riscontrato uno stato di carenza di insulina associato ad una diminuzione delle concentrazioni di IGFI mentre l'iperinsulinemia sembra sia responsabile di un aumento

dei livelli ematici del peptide. Amiel *et al.* [62] e Tamborlane *et al.* [63] hanno valutato il rapporto esistente tra controllo metabolico e IGFI in soggetti giovani affetti da diabete di tipo I (IDDM); il controllo della glicemia mediante infusione sottocutanea continua di insulina determina un netto incremento delle concentrazioni plasmatiche di IGFI. Gli studi fatti da Merimee *et al.* [64] su soggetti diabetici neodiagnosticati confermano l'azione di stimolo che l'insulina esercita sulle IGFI. In questi pazienti, non ancora trattati con insulina, le concentrazioni plasmatiche di IGFI sono basse o ai limiti inferiori della norma, mentre ritornano ai livelli normali quando si instaura la terapia insulinica e aumentano quando la terapia viene ottimizzata.

Negli animali con diabete indotto sperimentalmente le concentrazioni di IGFI sono diminuite sia in caso di gravidanza sia al di fuori di questa. L'iperinsulinemia indotta in feti di alcune specie animali, sia attraverso l'infusione diretta (coniglio, maiale e scimmia), o inducendo sperimentalmente il diabete in gravide (cavie e conigli) è associata con elevate concentrazioni di IGFI [34]. Il meccanismo secondo il quale ciò si determina non è chiaro. Secondo alcuni autori [65, 66] l'insulina stimolerebbe l'espressione dei recettori per il GH a livello epatico per cui si avrebbe un aumento delle concentrazioni plasmatiche di IGFI (l'IGFII non è GH dipendente). La carenza di insulina, infatti, determinerebbe una difettosa risposta del GH a livello post-recettoriale e quindi una diminuzione di IGFI. Secondo altri [67] è probabile che il flusso di elementi nutritivi a livello cellulare, garantito dall'insulina, sia un fattore importante nella sintesi di IGFI.

Blethen *et al.* [68] hanno osservato in neonati affetti da diabete mellito transitorio, che presentavano un lieve ritardo di crescita, un rapido incremento dell'IGFI dopo l'inizio della terapia insulinica associato ad un aumento della velocità di crescita dei neonati stessi. L'insulina e il buon controllo metabolico permettono comunque una adeguata risposta dell'IGFI al GH; in assenza di questi elementi le concentrazioni ematiche di IGFI diminuiscono e i livelli di GH aumentano a causa del mancato *feed-back* negativo esercitato dall'IGFI stesso [69].

Il diabete oltre ad influenzare i livelli circolanti di IGFI è responsabile anche di una alterata produzione della proteina legante l'IGFI (IGF-BP1). Brismar *et al.* [70] hanno osservato che i livelli basali di IGF-BP1 sono inversamente correlati alle concentrazioni ematiche di insulina sia in pazienti diabetici sia nei controlli. In particolare, pazienti diabetici caratterizzati da una deficitaria produzione di insulina presentano livelli di IGF-BP1 sierici elevati e significativamente correlati con l'attività inibitoria sull'IGFI; questa proteina potrebbe quindi identificarsi con uno dei fattori inibenti l'IGFI presenti in pazienti diabetici, ed inoltre il suo incremento nella malattia diabetica potrebbe svolgere un ruolo nel ritardato accrescimento staturale spesso osservato in bambini diabetici [71].

Per quanto riguarda le IGFII i risultati ottenuti dai vari autori sono discordanti. Hall *et al.* [72] hanno avanzato l'ipotesi su di un possibile meccanismo di regolazione

delle IGFII; in base al reperto di una correlazione diretta tra i livelli di IGFII ed emoglobina glicosilata (HbA1c) in adolescenti diabetici essi hanno proposto che il glucosio possa regolare l'espressione del gene per le IGFII.

Dal momento che la malattia diabetica influenza notevolmente la produzione di IGFI, diversi autori [9, 10] hanno studiato il comportamento di questo peptide durante la gravidanza in pazienti diabetiche. La gravidanza complicata da diabete rientra tra le cosiddette gravidanze a rischio sia per le complicanze materne (aborto, gestosi) sia per quelle fetali e neonatali (malformazioni, macrosomia, ittero, sindrome da distress respiratorio). La macrosomia è la più nota complicanza del diabete in gravidanza, che caratterizza sia le pazienti con diabete di tipo I e ancor di più quelle con diabete di tipo II e gestazionale. Essa si associa frequentemente ad un parto distocico con conseguente asfissia neonatale o paralisi del plesso brachiale. È caratterizzata da ipertrofia e iperplasia della maggior parte degli organi (eccetto l'encefalo) [11], causata dall'iperinsulinemia fetale a sua volta in rapporto all'ipertrofia e all'iperplasia beta cellulare [73]. Il cattivo controllo metabolico materno sarebbe, dunque, il fattore etiopatogenetico principale. Altri autori [34] hanno avanzato altre ipotesi patogenetiche. Le IGFs potrebbero essere coinvolte in tale complicanza amplificando l'effetto dell'iperinsulinemia stessa. L'IGFI materno circolante non attraversa la

barriera placentare, è verosimile che esso agisca con meccanismo endocrino, nel regolare il metabolismo materno in relazione alle esigenze del feto. Diversi autori hanno cercato una correlazione tra IGFI materne e "birth weight ratio" (peso alla nascita corretto per sesso ed età gestazionale) in pazienti diabetiche e controlli, alcuni autori non hanno trovato alcuna correlazione [74], Hall *et al.* [75] riportano invece che il percentile del peso alla nascita si correla con i livelli medi IGFI nel terzo trimestre in pazienti non diabetiche, e con il rapporto IGF/proteina legante in gestanti diabetiche.

In base alle evidenze su esposte è stato avviato, nel nostro laboratorio, uno studio sperimentale per confermare o smentire l'ipotesi dell'esistenza di una correlazione tra complicanze fetali, IGFI, proteine di trasporto, controllo metabolico della glicemia nelle donne affette da diabete tipo I, tipo II e gestazionale, nei controlli e nel sangue del funicolo dei rispettivi neonati. A questa prima indagine, faranno seguito ulteriori studi per chiarire la funzione dei recettori, il meccanismo con cui essi innescano le reazioni intracellulari necessarie per l'attività dell'IGFs, interazioni tra proteine vettici (BPs) e IGFs durante la vita fetale sia in gravidanze normali che complicate da diabete.

Ricevuto il 26 giugno 1992.

Accettato il 23 settembre 1992.

BIBLIOGRAFIA

1. RINDERKNECHT, E. & HUMBEL, R.E. 1976. Polypeptides with non-suppressible insulin-like and cell-growth promoting activities in human serum: isolation, chemical characterization, and some biological properties of forms 1 and 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73: 2365-2369.
2. NISLEY, S.P. & RECHLER, M.M. 1978. Multiplication stimulating activity (MSA): a somatomedin-like polypeptide from cultured rat liver cells. *Natl. Cancer. Inst. Monogr.* 48: 167-177.
3. DAUGHADAY, W.H., HALL, K., SALOMON, W.D., VANDENBRANDE, J.L. & VAN WYK, J.J. 1987. Letter to the Editor: On the nomenclature of the somatomedins and insulin-like growth factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 65: 1075-1076.
4. SHEPPARD, M.S. & BALA, R.M. 1987. Growth hormone secretion during pregnancy: altered effects of growth hormone releasing factor and IGFI *in vitro*. *Horm. Res.* 27: 205-210.
5. RINDERKNECHT, E. & HUMBEL, R.E. 1978. The amino acid sequence of insulin-like growth factor 1 and its structural homology with proinsulin. *J. Biol. Chem.* 253: 2769-2776.
6. RINDERKNECHT, E. & HUMBEL, R.E. 1978. Primary structure of human insulin-like growth factor 2. *FEBS Lett.* 89: 283-286.
7. SPENCER, E.M., ROSS, M. & SMITH, B. 1981. The identity of human IGFI and IGFII: somatomedins C and A and homology with rat IGFI and IGFII. In: *Insulin-like growth factors/somatomedins. Basic chemistry, biology and clinical importance.* (Spencer Ed.). pp. 81-86.
8. KLAPPER, D.G., SVOBODA, M.E. & VAN WYCK, J.J. 1983. Sequence of somatomedin C: confirmation of identity with insulin-like growth factor 1. *Endocrinology* 112: 2215-2217.
9. WHITTAKER, P.G., STEWART, M.O., TAYLOR, A., HOWELL, J.S.R. & LIND, T. 1990. Insulin-like growth factor I and its binding protein 1 during normal and diabetic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 76(2): 223-229.
10. SAMAN, N.A., RENA VASSILOPOULOU-SELLIN, P.H., SCHULTZ, P.N., RIVERA, M.E. & HELD, B. 1985. Nonsuppressible insulin-like activity and somatomedin C levels in normal pregnancy women with gestational diabetes, and in umbilical cord blood of mature and premature infants. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 153: 457-461.
11. HEDING, L.G., PERSSON, B. & STABGENBERG, M. 1980. The B-cell function in newborn infants of diabetic mothers. *Diabetologia* 19: 427.
12. CLEMMONS, D.R., KLIBANSKI, A., UNDERWOOD, L.E. *et al.* 1981. Reduction of plasma immunoreactive somatomedin C during fasting in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 53: 1247-1250.

13. SCHWANDER, J.C., HAURIC, ZAPF, J. & FROESCH, E.R. 1983. Synthesis and secretion of insulin-like growth factor and its binding protein by the perfused rat liver: dependence on growth hormone status. *Endocrinology* **113**: 297-305.
14. ZAPF, J., WALTER, H. & FROESCH, E.R. 1981. Long term *in vivo* effects of insulin-like growth factor I and II in normal subjects and in patients with growth disorders and extrapancreatic tumor hypoglycaemia. *J. Clin. Invest.* **68**: 1321-1330.
15. ULLRICH, A., GRAY, A. & TAM, A.W. 1986. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J.* **5**: 2503-2512.
16. AUGUST, G.P., NISSLEY, S.P., KASUGA, M., LEE, L., GREENSTEIN, L. & RECHLER, M.M. 1983. Purification of an insulin-like growth factor II receptor from rat condrosarcoma cell. *J. Biol. Chem.* **258**: 9033-9036.
17. ULLRICH, A., BELL, J.R. & CHEN, E.Y. 1985. Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. *Nature* **313**: 756-761.
18. BAXTER, R.C. 1986. The somatomedins in insulin-like growth factors. *Adv. Clin. Chem.* **25**: 49-119.
19. HAN, V.K.M., D'ERCOLE, A.J. & LUND, P.K. 1987. Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science* **236**: 193-197.
20. BAXTER, R.C., ZALTSMAN, Z. & TURTLE, J.R. 1984. Immunoreactive somatomedin-C/insulin-like growth factor 1 and its binding protein in human milk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **58**: 955-959.
21. BAXTER, R.C., MARTIN, J.L. & HANDELSMAN, D.J. 1984. Identification of human semen insulin-like growth factor I/somatomedin-C immunoreactivity and binding protein. *Acta Endocrinol.* **106**: 420-427.
22. HAMMOND, J.M., VELDHUIS, J.D., SEALE, T.W. & RECHLER, M.M. 1982. Intraovarian regulation of granulosa cell replication. *Adv. Exp. Med. Biol.* **147**: 341-356.
23. MERIMEE, T.J., GRANT, M. & TYSON, J.E. 1984. Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **59**: 752-755.
24. SCOTT, C.D., MARTIN, J.L. & BAXTER, R.C. 1985. Production of insulin-like growth factor one and its binding protein by adult rat hepatocytes in primary cultures. *Endocrinology* **106**: 1094-1098.
25. SCHALCH, D.S., HEINRIC, U.E. & DRAZNIN, B. 1979. Role of the liver in regulating somatomedin activity: hormonal effects on the synthesis and release of insulin-like growth factor and its carrier protein by the isolated perfused rat liver. *Endocrinology* **104**: 1143-1151.
26. BALA, R.M., LAPATKA, J., LEUNG, A., MCCOY, E. & MCARTHUR, R.G. 1981. Serum immunoreactive somatomedin levels in normal adults, pregnant women at term, children at various ages and children with constitutionally delayed growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **52**: 508-512.
27. COHEN, K.L. & NISSLEY, S.P. 1976. The serum half-life of somatomedin activity, evidence for growth hormone dependence. *Acta Endocrinol.* **83**: 243-258.
28. MOSES, A.C., NISSLEY, S.P., COHEN, K. & RECHLER, M.M. 1986. Specific binding of a somatomedin-like polypeptide in rat serum depends on growth hormone. *Nature* **263**: 137.
29. WHITE, R.M., MOSES, A.C., NISSLEY, S.P., RECHLER, M.M. & JOHNSONBAUGH, R.E. 1981. The growth hormone dependence of a serum somatomedin-binding protein in human serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **53**: 49-53.
30. BORLAND, K., MITA, M., OPPENHEIMER, C.L. *et al.* 1984. The actions of insulin-like growth factor I and II on cultured Sertoli cells. *Endocrinology* **114**: 220.
31. GLUCKMAN, P.D. & BUTLER, J.H. 1983. Parturition related changes in insulin-like growth factors I and II in the perinatal lamb. *J. Endocrinol.* **99**: 223-232.
32. CAUFRIEZ, A. & FRANKENNE, F. 1990. Placental growth hormone as a potential regulator of maternal IGF-I during human pregnancy. *Am. J. Physiol.* **258**: E1014-1019.
33. BORSI, L., ROSENFELD, R.G., LIU, E. & HINTZ, R.L. 1982. Somatomedin peptide distribution and somatomedin binding protein content in cord plasma: comparison to normal and hypopituitary plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **54**: 223-228.
34. D'ERCOLE, J.A. 1987. Somatomedins/insulin-like growth factors and fetal growth. *J. Dev. Physiol.* **9**: 481-495.
35. GLUCKMAN, P.D., BARRETT, J.J. & BUTLER, J.H. 1983. Studies of insulin-like growth factor I and II by specific radioligand assays in umbilical cord blood. *Clin. Endocrinol.* **19**: 405-413.
36. GLUCKMAN, P.D. & BRINSMAD, M.W. 1976. Somatomedin in cord blood relationship to gestational age and birth size. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **43**: 1378.
37. BENNETT, A., WILSON, M.D., LIU, F. & NAGASHIMA, R. 1983. Levels of insulin like growth factors I and II in human cord blood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **57**: 609-612.

38. ZAPF, J., WALDVOGEL, M. & FROESCH, E.R. 1975. Binding of non suppressible insulin-like activity to human serum. Evidence for a carrier protein. *Arch. Biochem. Biophys.* **168**: 638-641.
39. ZAPF, J., SCHOENLE, E., JAGARS, G., SAND, I., GRUNWALD, J. & FROESCH, E.R. 1979. Inhibition of the action of non suppressible insulin-like activity on isolated rat fat cells by binding to its carrier protein. *J. Clin. Invest.* **63**: 1077-1084.
40. FURLANETTO, R.W. 1980. The somatomedin C binding protein: evidence for a heterologous subunit structure *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **51**: 12-19.
41. BINOX, M., HARDOUIN, S., LASSARRE, C. & HOSSENLOPP, P. 1982. Evidence for production by the liver of two IGF binding proteins with similar molecular weights but different affinities for IGF1 and IGFII. Their relations with serum and cerebrospinal fluid IGF binding proteins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **55**: 600-602.
42. HINTZ, R.L. & LIU, F. 1979. Human somatomedin plasma binding proteins. In: *Somatomedins and growth*. G. Giordano, J.J. Van Wyck & F. Minuto (Eds). Serono Symposia n. 23. Academic Press Inc., London. pp. 143-150.
43. FROESCH, E.R., ZAPF, J. & SCHOENLE, E. 1979. Serum NSILA and IGFs. News and riddles. In: *Hormones and cell regulation*. J. Dumont (Ed.). Elsevier, North Holland Amsterdam. Vol. 3. pp. 149-158.
44. CHATELAIN, P.G., VAN WYK, J.J., COPELAND, K.C., BLETHEN, S.L. & UNDERWOOD, L.E. 1983. Effect of *in vitro* action of serum proteases or exposure to acid on measurable immunoreactive somatomedin-C in serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **56**: 376-383.
45. ZAPF, J., SCHOENLE, E. & FROESCH, E.R. 1978. Insulin-like growth factor I and II: some biological actions and receptor binding characteristics of two purified constituents of non suppressible insulin-like activity of human serum. *Eur. J. Biochem.* **87**: 285-296.
46. FLORINI, J.R., NICHOLSON, M.L. & DULAK, N.C. 1977. Effects of peptide anabolic hormones on growth of myoblasts in culture. *Endocrinology* **101**: 32-41.
47. RABINOVICH, A., QUIGLEY, C., RUSSEL, T., PATEL, Y. & MINTZ, D.H. 1982. Insulin and multiplication-stimulating activity (insulin-like growth factor) stimulates islet beta cells replication in neonatal rat pancreatic monolayer cultures. *Diabetes* **31**: 160-164.
48. SCHIMPF, R.M. & REPELLIN, A.M. 1983. Effect of purified somatomedins on thymidine incorporation into lectin activated human lymphocytes. *Acta Endocrinol.* **102**: 21-26.
49. LENOIR, D. & HONEGGER, P. 1983. Insulin-like growth factor I (IGFI) stimulates DNA synthesis in fetal rat brain cells cultures. *Brain Res.* **283**: 205-213.
50. FLORINI, J.R., EWTON, D.Z. & FALEN, S.L. 1986. Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins. *Am. J. Physiol. (Cell. Physiol.)* **19** **250**: C1-C8.
51. VAN WYCK, J.J., RUSSEL, W.E. & UNDERWOOD, L.E. 1986. Action of somatomedins on cell growth: Effect of selective neutralization of somatomedin C (insulin-like growth factor I) with a monoclonal antibody. In: *Human growth hormone*. S. Raiti & R. Tolman (Eds). Plenum Publishing Corp., New York. pp. 585-592.
52. GREEN, H., MORIKAWA, N. & NIXON, T. 1985. A dual effector theory of growth hormone action. *Differentiation* **29**: 195-198.
53. ZEZULAK, K.M. & GREEN, H. 1986. The generation of insulin-like growth factor I sensitive cells by growth hormone action. *Science* **233**: 551-553.
54. SMITH, P., WYNFORD-THOMAS, D. & STRINGER, M.J. 1986. Growth factor control of rat thyroid follicular cell proliferation. *Endocrinology* **119**: 1439-1445.
55. MINUTO, F., BARRECA, A. & DEL MONTE, P. 1989. Immunoreactive insulin-like growth factor I (IGFI) and II (IGFII) binding protein content in human thyroid tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **68**: 621-626.
56. HALL, K. & ENBERG, G. 1984. Somatomedin levels in pregnancy: longitudinal study in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **59**: 587-594.
57. FURLANETTO, R.W., UNDERWOOD, L.E. & VAN WYCK, J.J. 1978. Serum immunoreactive somatomedin-C is elevated in late pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **41**: 695-698.
58. DAUGHDAY, W.H. & KAPADIA, M. 1978. Maintenance of serum somatomedin activity in hypophysectomized pregnant rats. *Endocrinology* **102**: 1317-1320.
59. HENNEN, G. & FRANKENNE, J. 1985. A human placental GH: increasing levels during second half of pregnancy with pituitary GH suppression as revealed by monoclonal antibody radioimmunoassays. *Int. J. Fertil.* **30**: 27-31.
60. HENNEN, G. & FRANKENNE, J. 1985. Monoclonal antibody to growth hormone: the discovery of a new variant. Human placental growth hormone. In: *International Symposium on Monoclonal Antibodies*. G. Forti, M. Serio & M.B. Lipsett (Eds). ARES Serono Symposia. Raven Press, New York. **30**: 29-37.
61. MERIMEE, T.J., ZAPF, J. & FROESCH, E.R. 1983. Insulin-like growth factors, studies in diabetics with and without retinopathy. *N. Engl. J. Med.* **309**: 527-530.

62. AMIEL, S.A., SHERWIN, R.S., HINTZ, R.L. & TAMBORLANE, W.V. 1984. Effect of diabetes and its control on insulin-like growth factors in the young subject with type 1 diabetes. *Diabetes* **33**: 1175-1179.
63. TAMBORLANE, W.V., HINTZ, R.L., BERGMAN, M. & SHERWIN, R.S. 1981. Insulin-infusion-pump treatment of diabetes influence of improved metabolic control on plasma somatomedin level. *N. Engl. J. Med.* **305**: 303-307.
64. MERIMÉE, T.J., GORDNER, D.F., ZAPF, J. & FROESCH, E.R. 1984. Effect of glycaemic control on serum insulin-like growth factors in diabetes mellitus. *Diabetes* **33**: 790-793.
65. MAES, M., UNDERWOOD, L.E. & KETELSLEGERS, J.M. 1986. Low serum somatomedin-C in insulin dependent diabetes: evidence for a postreceptor mechanism. *Endocrinology* **118**: 377-382.
66. DAUGHADAY, W.H., PHILLIPS, L.S. & MUELLER, M.C. 1976. The effects of insulin and growth hormone on the release of somatomedin by the isolated rat liver. *Endocrinology* **98**: 1214-1219.
67. GLASER, W.E., GOLDSTEIN, S. & PHILLIPS, S. 1987. Nutrition and somatomedin. XVII. Circulating somatomedin C during treatment in diabetic ketoacidosis. *Diabetes* **36**: 1152-1160.
68. BLETHEN, S.L., WHITE, N.H., SANTIAGO, J.V. & DAUGHADAY, W.H. 1981. Plasma somatomedins, endogenous insulin secretion, and growth in transient neonatal diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* **52**: 144-147.
69. CARLSSON, L.M.S., CLARK, R.G., SKOTTNER, A. & ROBINSON, I.C.A.F. 1989. Growth hormone and growth in diabetic rats: effects of insulin and insulin-like growth factor infusions. *J. Endocrinol.* **122**: 661-670.
70. BRISMAR, K., GUTNIAK, M., POVOA, G., WERNER, S. & HALL, K. 1988. Insulin regulates the 35 kDa IGF binding protein in patients with diabetes mellitus. *J. Endocrinol. Invest.* **11**: 599-602.
71. TAYLOR, A.M., DUNGER, D.B. & PREECE, M.A. 1990. The growth hormone independent insulin-like growth factor I binding protein BP-28 is associated with serum insulin-like growth factor I inhibitory bioactivity in adolescent insulin dependent diabetics. *Clin. Endocrinol.* **32**: 229-239.
72. HALL, K., ENBERG, G., RITZEN, E.M. & SVAN, H. 1980. Somatomedin A levels in serum from healthy children and from children with growth hormone deficiency or delayed puberty. *Acta Endocrinol.* **94**: 155-165.
73. PEDERSEN, J. 1971. Hyperglycemia-hyperinsulinism theory and birth weight. In: *the pregnant diabetic and her newborn*. J. Pedersen (Ed.). Munksgaard, Copenhagen. pp. 211.
74. HILL, W.C., PELLE-DAV, G., KITZMILLER, J.L. & SPENCER, M.E. 1989. Insulin-like growth factors in fetal macrosomia with and without maternal diabetes. *Horm. Res.* **32**: 178-182.
75. HALL, K., HANSSON, U. & LUNDIN, C. 1986. Serum levels of somatomedins and somatomedin binding protein in pregnant women with type 1 or gestational diabetes and their infants. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **63**: 1300.