

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO

“DETECCIÓN DE RECEPTORES PARA FACTORES DE CRECIMIENTO
SIMILARES A INSULINA (IGF - 1) Y RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA
(RE - A) Y BETA (RE - B) Y SU POSIBLE CORRELACIÓN FISIOPATOLOGICA
EN EL DESARROLLO DE LEIOMIOMATOSIS”.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DRA. JAZMIN GÓMEZ ORIHUELA

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD:

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

ASESOR DE TESIS:

DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA

NÚMERO DE REGISTRO DE PROTOCOLO:

144. 2006

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“DETECCIÓN DE RECEPTORES PARA FACTORES DE CRECIMIENTO
SIMILARES A INSULINA (IGF - 1) Y RECEPTORES DE ESTRÓGENOS ALFA
(RE - A) Y BETA (RE - B) Y SU POSIBLE CORRELACIÓN FISIOPATOLOGICA
EN EL DESARROLLO DE LEIOMIOMATOSIS”.

DRA. JAZMIN GÓMEZ ORIHUELA

GINECOOBSTETRICIA

HOSPITAL REGIONAL “LICENCIADO ADOLFO LOPEZ MATEOS”

ISSSTE

DR. OSCAR A. TREJO SOLÓRZANO

PROFESOR TITULAR

DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA

ASESOR DE TESIS

NO. REGISTRO

144. 2006

2006

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	23
REFERENCIAS.....	26

RESUMEN.

OBJETIVO: Correlacionar la expresión de receptores de estrógeno con la aparición de receptores promotores de crecimiento como el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) que favorezcan la proliferación muscular en el desarrollo de los leiomiomas uterinos. **MATERIAL Y METODOS:** En 20 biopsias con reporte histopatológico de leiomiomatosis uterina, se realizaron tinciones de inmunohistoquímica con anticuerpos policlonales específicos contra los receptores de estrógeno alfa y beta y contra receptores de factor de crecimiento similares a la insulina (IGF-1R). Las características clínicas de las pacientes sugieren manifestaciones compatibles con síndrome metabólico. Las biopsias incluyeron tejido miometrial sano así como con leiomiomatosis uterina y fueron leídas en un microscopio Leitz óptico, que posee un subprograma que permite contabilizar el número de receptores expresados en las células. **RESULTADOS:** La determinación de receptores alfa no mostró diferencias entre las dos regiones analizadas, en cambio si hubo un aumento en la expresión de receptores beta en la zona fibrosa vs. la zona normal ($p < 0.05$). Lo más interesante fue observar aumento en la expresión de receptores para insulina en la zona de mioma; estos receptores se asocian de manera muy importante con el síndrome metabólico. **CONCLUSIÓN:** Es probable que los leiomiomas en pacientes con factores de riesgo importantes para el desarrollo de síndrome metabólico sean parte de las manifestaciones de este último ya que carecen de receptores represores de la proliferación inducida por estradiol (alfa), tienen mas receptores promotores de proliferación (beta) así como receptores tipo 1 de insulina. Sugerimos hacer controles mas tempranos de síndrome metabólico y miomas (ultrasonido a la par del papanicolao, determinación de glucemia en ayuno, colesterol triglicéridos, acido úrico y medición de obesidad abdominal) en todas las mujeres mayores de 35 años.

Palabras clave: Leiomiomatosis uterina, receptores de estrógeno, receptor de factor de crecimiento similar a insulina tipo 1.

ABSTRACT.

OBJECTIVE: To correlate the expression of estrogen receptors with the appearance of growth promoting receptors such as insulin-like growth factor 1 (IGF-1) that might be related to the proliferation of muscle in the development of leiomyoma.

MATERIAL AND METHODS: 20 biopsies with an anatomopathological report of uterine leiomyomatosis were immunohistochemically stained with polyclonal antibodies specific for alpha and beta estrogen receptor as well as insulin-like growth factor receptor 1. The clinical data of all the patients suggested the presence of metabolic syndrome compatible manifestations. The biopsies included healthy and myomatose tissue; the PAP-stained biopsies were analyzed with an optical Leitz microscope that has a special subprogram that allows for the counting of the receptors expressed on the cell membrane.

RESULTS: There were no differences in the expression of estrogen alpha receptors in the myomatose and healthy regions of the biopsies, but a significant increase in beta receptors was found in the myomatose region of all the biopsies ($p < 0.05$). Interestingly, there was an increase in the expression of IGF-1 receptors in the myoma region.

CONCLUSION: It is highly probable that leiomyomas in patients with risk factors related to metabolic syndrome are constituents of the latter since myomas lacked estrogen alpha receptors, which have a suppressive activity upon the proliferation induced by estradiol, expressed more proliferation related beta receptors, and expressed more IGF-1 receptors, which are heavily associated with the metabolic syndrome. We suggest that patients above the age of 35 with such risk factors as those already mentioned and carry myomas should have early preventive measures taken (papanicolau test together with an ultrasound, detection of glucose in fast, cholesterol, triglycerides, uric acid, abdominal obesity).

Key words: Uterine leiomyoma, estrogen and progesterone receptors, insulin-like growth factor type I receptor.

INTRODUCCIÓN.

Los leiomiomas uterinos o fibromas representan un problema de salud pública, es la causa más común de tumores benignos en mujeres en edad reproductiva, y ocurre en más del 30% de mujeres mayores de 35 años y este porcentaje aumenta al 50% si los miomas se buscan sistemáticamente en las autopsias llegan a ser sintomáticos en un tercio de estas mujeres (1, 2). La leiomiomatosis es la indicación más frecuente para histerectomía en México y Estados Unidos (3, 4), y aunque la causa de estos fibromas se desconoce, se han identificado varios factores predisponentes: edad, etnia, nuliparidad y obesidad. (5, 6, 7).

Anormalidades citogenéticas se han encontrado en cerca del 40% de los leiomiomas examinados. Estrógenos y progesterona son reconocidos como promotores del crecimiento del leiomioma, y recientemente se ha estudiado el rol potencial del medio ambiente (8). Factores de crecimiento con actividad mitogénica, como el factor de crecimiento tumoral Beta 3, factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento epidérmico, y factor de crecimiento similar a la insulina 1, están elevados en fibromas y el aumento de estos factores puede estar dado por los estrógenos (9).

Los leiomiomas están constituidos por fibras musculares lisas, con un escaso porcentaje de mitosis, con núcleos alargados, rodeados de fibras de colágeno y de una pseudocápsula formada por células musculares lisas y son poco vascularizados.

Los estrógenos y la progesterona intervienen en la expresión de los genes específicos del tejido uterino tras la unión de la hormona con su receptor nuclear (10). A diferencia de lo que ocurre en el endometrio, no existe ninguna variación cíclica de los niveles de receptores de estrógenos (RE) y de receptores de progesterona (RP) en el miometrio sano durante el ciclo menstrual. La cantidad de RE es escasa al principio de la fase folicular y aumenta progresivamente hasta estabilizarse en el período ovulatorio (11).

Los estrógenos se consideran como el principal agente inductor del crecimiento de los leiomiomas (12), ya que estos últimos están presentes y aumentan de tamaño en las mujeres con menstruación y disminuyen después de la menopausia (13,14). Durante el embarazo existe progresión de estos y en pacientes con tratamiento prolongado con análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) se genera un hipoestrogenismo que reduce el tamaño de los leiomiomas (15,16,17). A pesar de que se sabe que existe un aumento en el número de receptores para estrógeno en los leiomiomas todavía no se ha publicado ningún dato sobre la posible participación de los receptores beta. Otros factores como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-I), también podrían ejercer algún efecto proliferativo. Los estrógenos también desempeñan una función en la sustancia extracelular estimulando la producción de colágeno de tipo 1 y 3, de conexina 43 y la producción local de péptido relacionado con la hormona paratiroidea.

Otras alteraciones encontradas en los leiomiomas incluyen disminución en la actividad de la 17-B Hidroxiesteroide deshidrogenasa (responsable de la conversión de estradiol a estrona) (18), y de la estradiol 4-Hidroxilasa en leiomiomas uterinos (19,20). Ambas alteraciones favorecen un aumento en la concentración de estradiol generando un hiperestrogenismo in situ. Se ha identificado mRNAs para IGF-1 e IGF-II y de sus receptores en tumores de miometrio y fibromas (21). El incremento del péptido IGF-1 es detectado en algunos, pero no en todos los estudios inmunohistoquímicos que comparan leiomiomas con miometrio (22). Recientes estudios han demostrado que IGF-1 es inducido por estrógenos en útero. Hormonas esteroideas sexuales incrementan las concentraciones de IGF-1 y de receptores IGF-1 mRNA (23,24,25). Los niveles de IGF-II son más altos en los leiomiomas que en el miometrio (26,27). Varios estudios indican que IGF-1 es responsable de la proliferación celular de los leiomiomas (28, 29, 30), así como un inhibidor de la apoptosis celular (31). Estos estudios ponen de manifiesto la heterogenicidad que existe en los tumores fibroides.

En recientes estudios se ha demostrado incremento en la expresión de la proteína Bcl-2, gen relacionado con la inhibición de la apoptosis, en células del leiomioma, en relación con células del miometrio adyacente (32).

Otro factor de crecimiento que se empieza a identificar es la prolactina que también es producida por tejido uterino, incluyendo los leiomiomas (33). Esta hormona pudiera ser un factor de crecimiento autocrino o paracrino para las células del leiomioma y del miometrio (34).

En la mayoría de los estudios se ha mostrado un aumento en la concentración de receptores de estrógenos tanto alfa como beta, así como aumento en la expresión de ER-a y ER-b mRNA en los leiomiomas en comparación con el miometrio. Sin embargo y a pesar de que la concentración de proteína fue menor que la hallada en miometrio normal (35), los elevados niveles de ER-b mRNA en los leiomiomas pudieran deberse a la pérdida de la regulación negativa que normalmente mantiene el miometrio o bien a una modificación en la concentración relativa de receptores alfa vs beta. Wang y cols en el 2001 sugieren que la presencia de ER-b favorece el desarrollo de leiomiomas mientras que la dominancia de ER-a sobre ER-b favorece la reducción del tamaño del mioma y por ende tendría un efecto protector. Se sabe que el tratamiento con análogos de GnRH, el cual se utiliza como tratamiento del leiomioma, favorece el aumento en la expresión de ER-a así como concentraciones muy bajas (36, 37) o indetectables (38) de IGF-1 y de IGF-IR (39).

El objetivo de este trabajo fue determinar si aunado a la modificación en la expresión de los receptores alfa y beta en el tejido con leiomiomas se podría encontrar un aumento en la expresión del IGF-1 ya que los factores asociados a leiomiomas comparten numerosas coincidencias con el síndrome metabólico (40). Mi propuesta es que la leiomiomatosis es una manifestación ginecológica del síndrome metabólico.

PROBLEMA.

Se desconoce si en el desarrollo de la leiomiomatosis además del hiperestrogenismo asociado con el aumento en la expresión de receptores de estrógenos pudiera haber otros factores que coadyuvaran en la formación de los leiomiomas.

HIPOTESIS.

El desarrollo de los leiomiomas, se debe a una modificación en la concentración relativa de receptores de estrógenos y al incremento en la expresión de receptores para factores de crecimiento muy especialmente el IGF-1, dado que las características de las pacientes que desarrollan leiomiomas son muy similares a las que presentan alguna manifestación de síndrome metabólico (I.E. diabetes, preeclampsia, síndrome de ovario poliquístico).

HIPOTESIS NULA.

El desarrollo de los leiomiomas no se debe a un incremento en la expresión de receptores de estrógeno, ni existe asociación con la presencia de factores de crecimiento principalmente tipo IGF- 1.

OBJETIVO (S)

Objetivo General:

Correlacionar la expresión de receptores de estrógeno con la aparición de receptores promotores de crecimiento como factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1).

Objetivo Específico:

Evaluar si existe una predisposición fundamentada en el aumento de receptores para estrógeno que induzca la aparición de receptores que favorezcan la proliferación muscular en el desarrollo de los leiomiomas uterinos.

JUSTIFICACIÓN.

Los leiomiomas uterinos o fibromas representan un problema de salud pública. Es la indicación más frecuente para histerectomía y aunque la causa de estos fibromas se desconoce, se tienen identificados varios factores predisponentes. Estrógenos son reconocidos como promotores del crecimiento del tumor, ya que regulan la actividad de numerosos genes que incluyen a los relacionados con la síntesis de colágeno. Recientemente se ha estudiado el rol de diversos factores de crecimiento con actividad mitogénica. Nuestro estudio intenta evaluar si existe una correlación entre la expresión de receptores de estrógenos y el receptor del factor de crecimiento similar a insulina en el desarrollo de leiomiomas ya que creemos que la leiomiomatosis podría ser una manifestación de síndrome metabólico.

MATERIAL Y METODOS.

Debido a que este es un estudio novedoso se decidió incluir a 20 mujeres entre 35 y 60 años de edad, independientemente si están o no en el período de la menopausia; sometidas a histerectomía por diagnóstico de leiomiomatosis por clínica y ultrasonido, en el período comprendido meses de entre los Junio a Septiembre del año 2006. Solo se incluyeron pacientes sin antecedentes de cáncer. El antecedente de tratamiento médico para leiomiomatosis no fue criterio de exclusión. Se obtuvo toda la información clínica relevante de los expedientes clínicos, que incluye antecedentes edad, menarca, paridad, obesidad, uso de terapia hormonal, tabaquismo y estudios de laboratorio como glucemia en ayuno, colesterol, y triglicéridos. Se obtuvo el resultado del reporte del estudio de patología y de manera colateral se trato de correlacionar los cambios encontrados con posibles alteraciones en el resultado de papanicolao.

Se realizaron tinciones de inmunohistoquímica con anticuerpos policlonales específicos contra los receptores de estrógeno alfa y beta y contra receptores de factor de crecimiento similares a la insulina (IGF-IR) en las muestras obtenidas con diagnóstico histopatológico de leiomiomatosis uterina. Las biopsias incluyeron tejido miometrial sano así como con leiomiomatosis uterina.

Una vez obtenida la muestra quirúrgica, se depositó en una solución de paraformaldehído al 4% en solución salina y se envió al servicio de patología del Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos (HRLALM) la cual fue procesada por las técnicas habituales de tinción y además se procedió a obtener un fragmento de 5 mm de largo 5mm de ancho 5mm de profundidad; principalmente de la región posterior del fondo uterino teniendo cuidado de que la muestra tenga tejido normal adyacente a tejido leiomiomatoso, la cual fue incluida en parafina y se efectuaron cortes seriados de 7 micras de grosor y se enviaron al laboratorio número 9 del departamento de bioquímica de la facultad de Medicina.

Las tinciones que se efectuaron a dichos cortes incluyeron detección con anticuerpos policlonales para receptores de estrógenos alfa y beta, receptores de IGF-1 (Santa Cruz, USA).

Estos anticuerpos posterior a la unión con su ligando específico fueron detectados con un segundo anticuerpo antiratón hecho en cabra marcado con peroxidasa y fueron leídos en un microscopio de Leitz, las imágenes fueron fotografiadas con la cámara incluida en el microscopio utilizando imágenes digitales que fueron procesadas con el software incluido en dicho equipo. Se evaluaron posteriormente dichas imágenes con un software especial que posee el laboratorio de enfermedades neurodegenerativas del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía a cargo del Dr. Jorge Guevara permitiendo contabilizar de manera muy aproximada el número de receptores expresados en las células. Las biopsias también fueron teñidas con hematoxilina eosina para determinar los miomas y las zonas con tejido normal.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de T de Students, las posibles correlaciones se buscaron efectuando un análisis multivariable de 2 vías. Para estos análisis se utilizó el programa SPSS versión 11. Cualquier diferencia que obtuvo un valor igual o menor al 0.05 se consideró como estadísticamente significativo.

Resultados

La tabla 1 y 2 muestran los resultados de las diversas evaluaciones clínicas que se efectuaron a las 20 pacientes incluidas en este estudio. Fue de interés observar que la mayoría de las pacientes tenían índice de masa corporal mayor a 30 y 4 de las pacientes con IMC mayor a 25, pero menor de 30, en algunos estudios serían catalogadas también como obesas ya que la talla es menor de 1.50 y por lo tanto se aumentaría una categoría, solo hubo 5 pacientes con IMC mayor a 25 y talla mayor a 1.50 y una sola paciente cae dentro del rango descrito como normal. Igualmente 13 pacientes fueron consideradas con obesidad abdominal presentando cifras de cintura >88 cm. Se observaron cuatro pacientes con cifras tensionales mayores o iguales a 130/85 mmHg. Solo 4 pacientes tenían cifras de glucemia en ayuno mayores de 100 mg/dl. Triglicéridos mayores a 150 se presentaron 4 y ninguna tenía HDL - C > 50 mg/dl. Así como ninguna paciente presentó microalbuminuria. Se observó que 10 de las pacientes tenían antecedentes familiares de diabetes y 3 pacientes con antecedentes de hipertensión. Un porcentaje elevado de las pacientes tenía antecedentes directos de leiomiomas (50%). No encontramos relación entre nuliparidad con el desarrollo de leiomiomas ya que solo una era núbil; y dentro de los factores relacionados como protectores para leiomiomatosis solamente una paciente tenía antecedentes de ingesta de hormonales orales por periodos prolongados; y el tabaquismo no pareció modificar el desarrollo de los leiomiomas ya que una de las pacientes fumaba muy esporádicamente y las otras dos con antecedentes de tabaquismo, fumaban en promedio 3 cigarros al día. Un aspecto interesante fue que todos los reportes de patología de las muestras de histerectomía, reportaron la presencia de cervicitis crónica inespecífica (CCI).

En un intento por integrar esta información con la literatura, creemos que los miomas podrían considerarse también como parte constitutiva del síndrome metabólico, o al menos, como un agregado a las manifestaciones clínicas del mismo (41, 42). Se sabe que si se efectuaran autopsias a todas las mujeres que mueren por la causa que sea, es probable que se encontrarían miomas en mas de la mitad de todas ellas, esto es lógico si consideramos la enorme presión de proliferación que tiene el útero, como órgano, mes con mes.

Si a esta característica, le añadimos la presencia de otros factores que también inducen producción de factores de crecimiento, tal y como se observa en el síndrome metabólico, no es raro que nuestros resultados sean esperados.

A raíz de esto, la propuesta terapéutica seria reforzar la terapia con análogos de GnRH, la cual inhibe la expresión de receptores de insulina, pero con una mayor vida media y preservar el uso de medicamentos antiprogestagenos en estas pacientes. El problema es que solo el 30% de las mujeres desarrollan miomas con manifestaciones clínicas, al restante 70% no se les puede ofrecer en la actualidad nada. Propongo que se efectuara como parte del programa de prevención de cáncer cervicouterino, además de la citología exfoliativa teñida con técnica de papanicolao, un ultrasonido de útero para detectar lesiones tempranas.

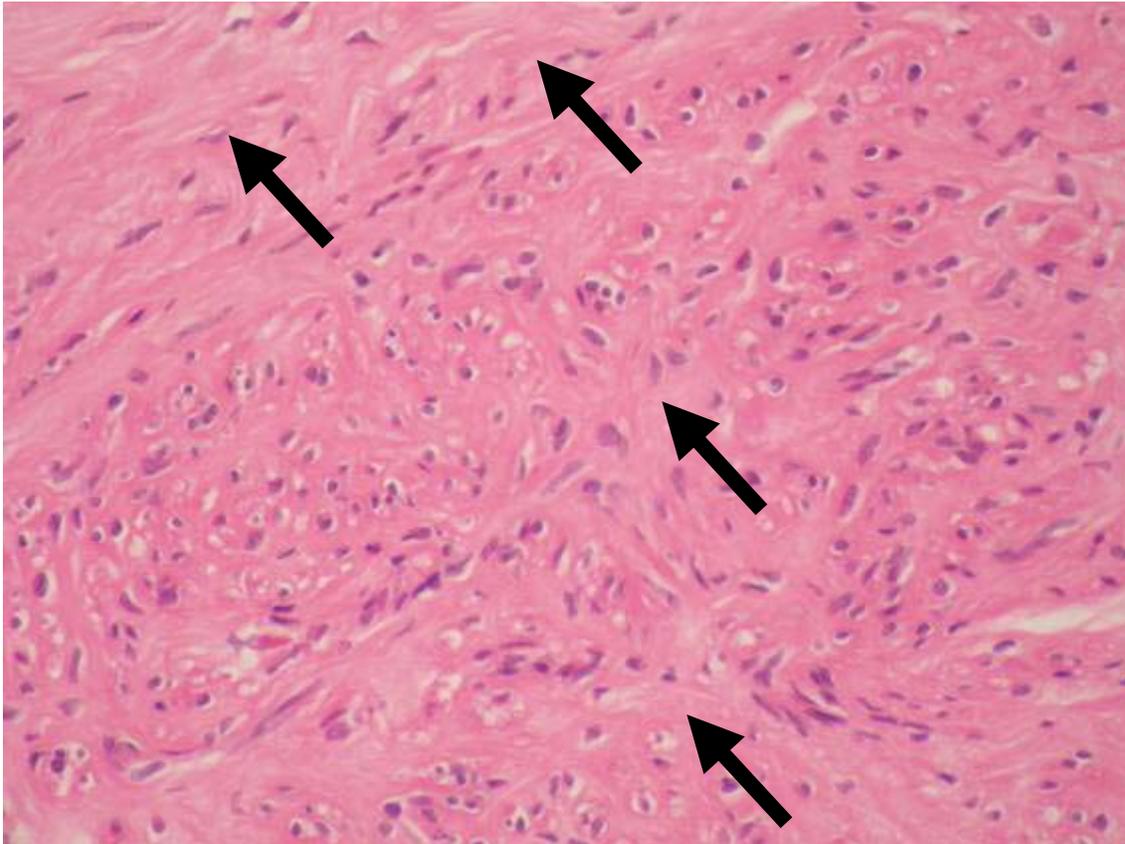
	Patología	Edad	AHF	APP	Menarca	Ciclos	Paridad	MPF	Tabaco	Cintura	IMC	Glucosa	TG
1	Leiomiomas CCI	43	Cáncer Miomatosis	No	13	28X4	G2 P1 A1	DIU	No	100	T: 1.44 P: 73 K IMC:35	106	130
2	Leiomiomas CCI	37	DM Miomatosis	No	13	28X5	G4 A1	OTB	No	96	T: 1.43 P: 66.500 IMC:32	121	164
3	Leiomiomas CCI Endometriosis	46	Cáncer DM Miomatosis	Microadenoma hipofisiario	13	28X5	G1	No	++	82	T: 1.48 P: 59.5 IMC:27	98	279
4	Leiomiomas CCI	38	No	No	13	Irregular	G2	No	++	83	T: 1.51 P: 58 IMC:25	94	80
5	Leiomiomas CCI	45	DM HAS Miomatosis	No	15	21X4	G1	No	No	103	T: 1.60 P: 70 IMC: 31	81	81
6	Leiomiomas CCI	43	No	No	14	28X3	G0	OTB	No	101	T: 1.51 P: 65 IMC:28	85	92
7	Leiomiomas CCI	40	Cáncer DM HAS Miomatosis	No	11	30X3	G2	OTB	+	105	T: 1.54 P:78.500 IMC:33	96	98
8	Leiomiomas CCI	44	No	No	13	Irregular	G4 A1	HO (3)	No	90	T: 1.55 P: 70 IMC: 29.1	99	130
9	Leiomiomas Adenomiosis CCI Endometriosis	48	No	No	11	28X8	G5 A1	OTB	No	80	T: 1.65 P: 76 IMC: 27	94	41
10	Leiomiomas CCI	36	DM Miomatosis	No	13	28X4	G2	OTB	No	84	T: 1. 42 P: 61 IMC: 30	98	135

Tabla 1 y 2. Características clínicas de las pacientes.

	Patología	Edad	AHF	APP	Menarca	Ciclos	Paridad	MPF	Tabaco	Cintura	IMC	Glucosa	TG
11	Leiomiomas CCI	52	No	No	13	30X4	G4	No	No	100	T: 1.55 P: 72 IMC: 30	108	148
12	Leiomiomas CCI	44	Miomatosis	Hipotiroides	14	30X8	G2	No	No	84	T: 1.57 P: 68.500 IMC: 27	84	108
13	Leiomiomas CCI	46	Cáncer DM Miomatosis	No	12	28X8	G2	OTB	No	90	T: 1.46 P: 60 IMC: 28	92	116
14	Leiomiomas Adeniosis CCI	42	Cáncer DM	No	13	28X4	G3	No	No	97	T: 1.59 P: 84 IMC: 33	84	80
15	Leiomiomas CCI	42	HAS Miomatosis	No	14	30X8	G3	No	No	78	T: 1.55 P: 56.500 IMC: 23	86	85
16	Leiomiomas CCI	44	Cáncer Miomatosis	No	17	28X8	G3	No	No	79	T: 1.44 P: 57.500 IMC: 27	109	110
17	Leiomiomas CCI	43	DM	HAS	13	28X6	G2	No	No	100	T: 1.58 P: 79 IMC: 31.7	74	120
18	Leiomiomas CCI	47	DM	HAS Hiper- tiroidea	13	30X8	G4 P3 C1	OTB	No	100	T: 1.64 P:82 IMC:31	102	86
19	Leiomiomas CCI	45	DM	HAS	12	28X5	G1	OTB	No	91	T: 1.57 P:85.500 IMC: 34	84	209
20	Leiomiomas CCI	58	No	HAS	11	30X4	G5	No	No	90	T:1.47 P:62 IMC: 28	85	77

Tabla 1 y 2. Características clínicas de las pacientes.

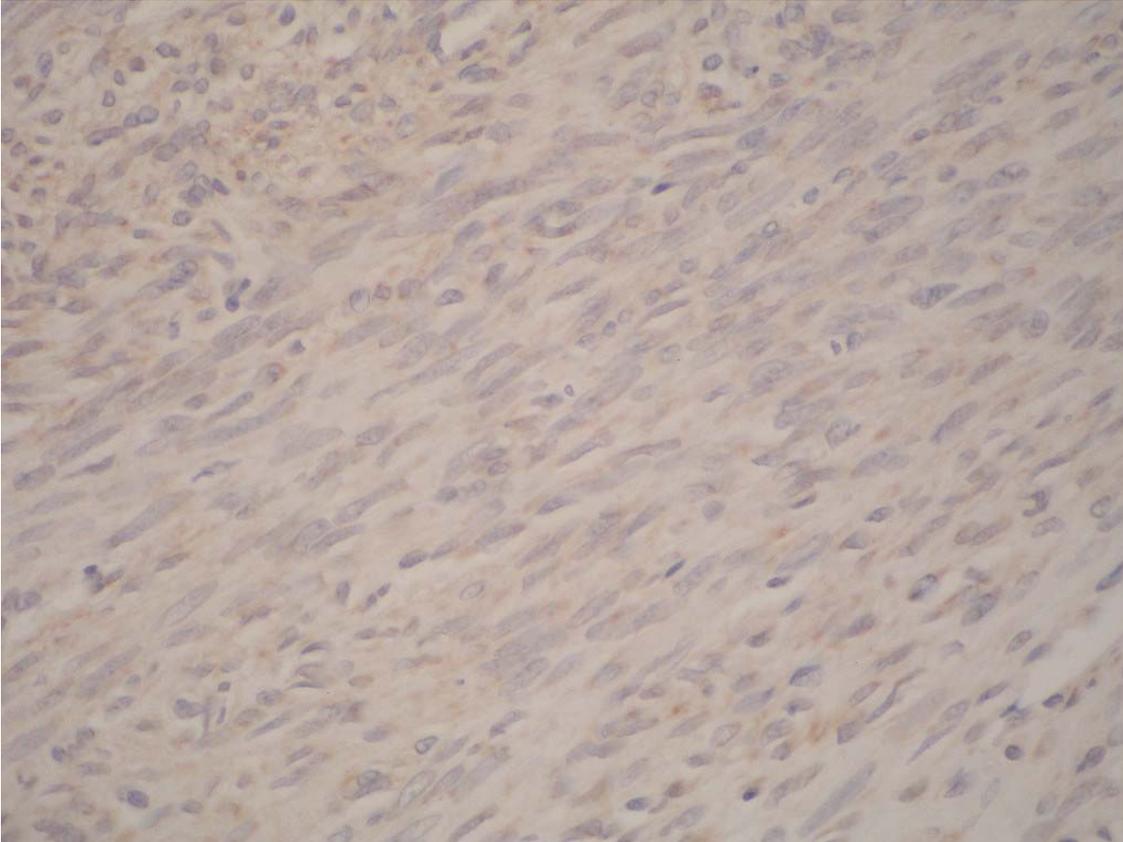
La tinción con hematoxilina eosina demostró claramente que las regiones evaluadas poseían tejido sano así como tejido miomatoso. Las flechas muestran las zonas de fibrosis que corresponden a los bordes de los miomas.



La determinación mediante técnicas inmunohistoquímicas de los receptores intracelulares alfa y beta para estrógeno mostraron que en la zona de lesión existe una mayor concentración de receptores β que en el tejido adyacente sin lesión (Figuras 1 y 2).

La mayoría de las células que expresaban el receptor beta en la zona sana lo hicieron en el citoplasma de las mismas, mientras que la expresión del receptor en el mioma fue considerablemente menor y además la expresión fue en la membrana de las células (Figura 1).

Figura 1.- Expresión de los receptores beta de estradiol en un leiomioma.



La determinación de receptores alfa no mostró diferencias entre las dos regiones analizadas.

Como se puede observar en la figura 2, la expresión de estos receptores fue muy baja y casi idéntica en ambas regiones. El número de células positivas en tres campos diferentes para cada una de las tinciones de cada una de las biopsias, fue contado utilizando un subprograma del software del microscopio Leitz.

Figura 2.- Expresión de los receptores alfa de estradiol en un leiomioma.

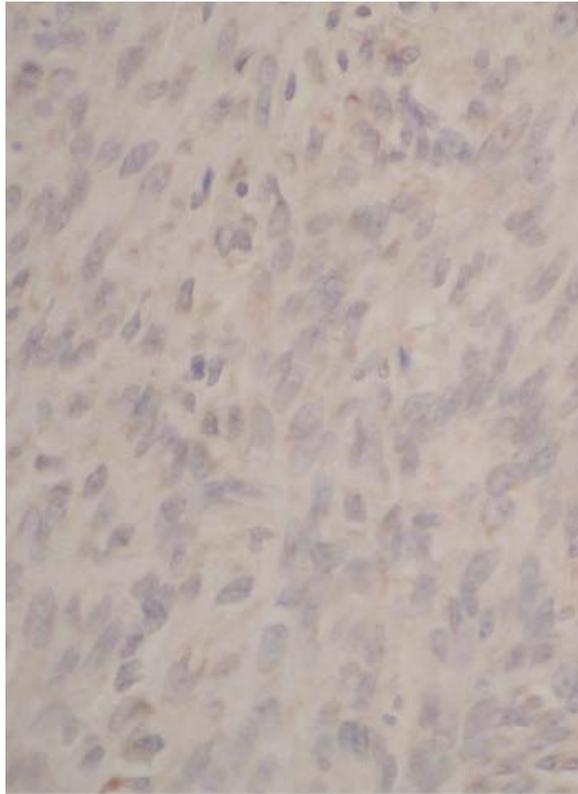


Tabla 2.- Numero de células positivas a la tinción con anticuerpos anti alfa y anti beta del receptor de estradiol en 3 campos evaluados por cada biopsia.

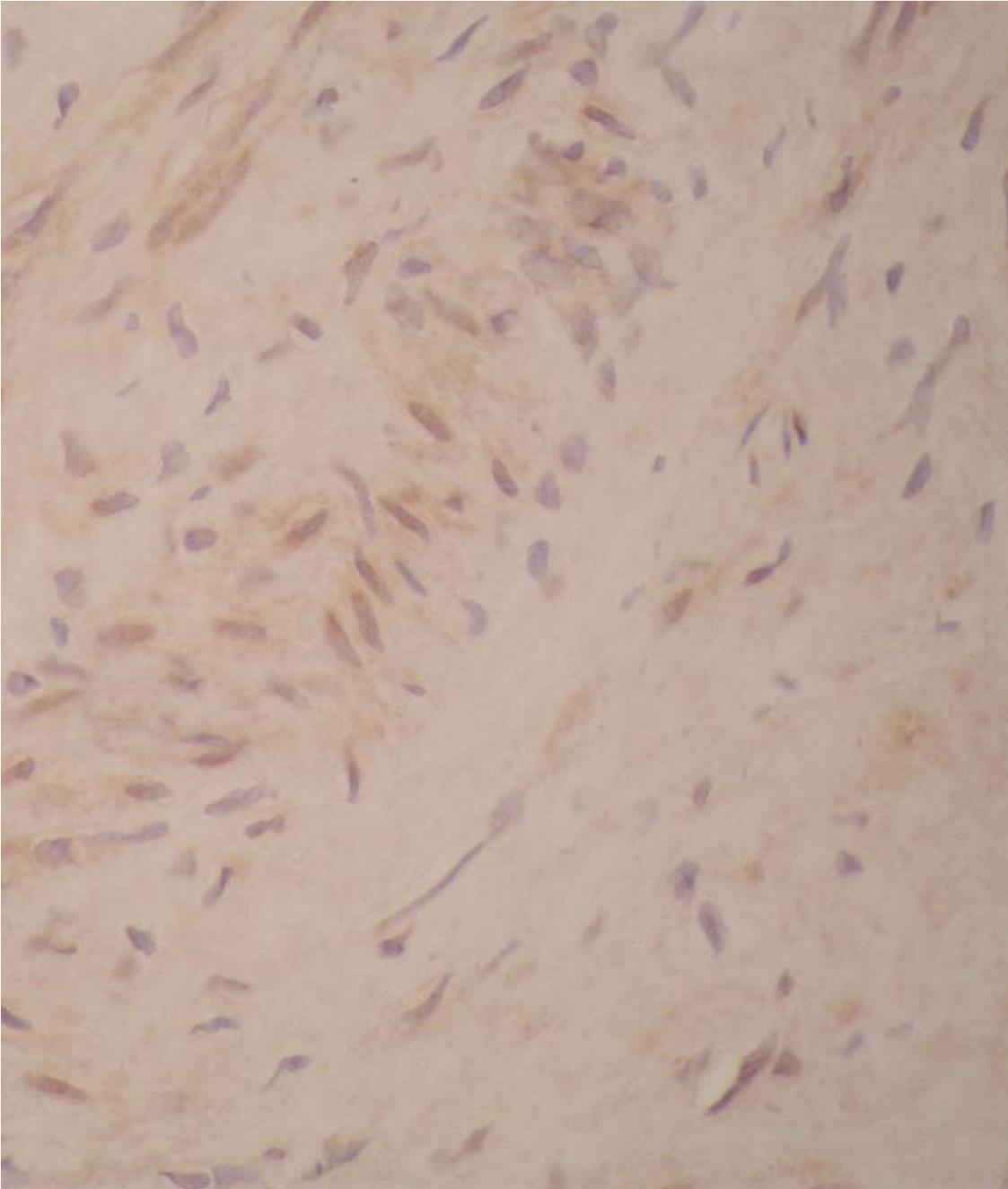
	Receptor alfa	Receptor beta
Tejido sano	38 ± 6	27 ± 5
Tejido miomatoso	33 ± 8	46 ± 7*

El asterisco representa un valor de $p < 0.05$ en comparación con el tejido sano. Las diferencias en los valores de los receptores alfa no alcanzaron significancia estadística ($p > 0.8$).

Después de analizar los resultados preliminares decidimos determinar la presencia de receptores de insulina en el tejido miomatoso por las siguientes razones: las pacientes tienen manifestaciones clínicas y de laboratorio compatibles con síndrome metabólico el cual se ha asociado con otros síndromes ginecológicos asociados a proliferación y a enfermedades clónico degenerativas (i.e. síndrome de ovario poliquístico).

Los resultados mostraron que un porcentaje elevado de las biopsias tuvieron un incremento en la cantidad de receptores para insulina en las células de la zona miomatososa, en comparación con las regiones de tejido sano. Figura 3

Figura 3.- Expresión de los receptores de insulina en un leiomioma.



DISCUSIÓN:

Leiomiomatosis uterina es la causa más común de neoplasia en mujeres en edad reproductiva en el período de la premenopausia (1,2). Además de ser la causa más común de histerectomía, representa un problema importante de salud pública. Se sabe que la proliferación de los leiomiomas se asocia con niveles bajos de E2 en un modelo murino de ratas Eker; en estos animales el tratamiento con antiestrogénos inhibió la incidencia del tumor y la proliferación celular. A pesar de que se sabe que existe un aumento en el número de receptores para estrógeno en los leiomiomas, en contraposición con los resultados obtenidos en el modelo murino, todavía no se sabe mucho sobre la posible participación de los receptores beta. Otros factores como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), también podrían ejercer algún efecto proliferativo. Los estrógenos también desempeñan una función en la sustancia extracelular estimulando la producción de colágeno de tipo 1 y 3, de conexina 43, la cual es importante para mantener la estructura del tejido, y la producción local de péptido relacionado con la hormona paratifoidea. Sin embargo no se sabe si los factores de crecimiento antes mencionados u algunos otros, tienen algún papel regulador en la aparición de los leiomiomas. Lo que es un hecho es que estos tumores quizás tienen una hipersensibilidad a los efectos proliferativos de los estrógenos.

Recientes estudios han demostrado que IGF-1 es inducido por estrógenos en útero. Hormonas esteroideas sexuales incrementan las concentraciones de IGF-1 y de receptores IGF - 1 mRNA (23,24,25). Los niveles de IGF-II son más altos en los leiomiomas que en el miometrio (26,27). Varios estudios indican que IGF-1 es responsable de la proliferación celular de los leiomiomas (28, 29, 30), así como un inhibidor de la apoptosis celular (31). Estos estudios ponen de manifiesto la heterogenicidad que existe en los tumores fibroides. Nuestros resultados confirmaron que la expresión de receptores beta para estradiol principalmente en el citoplasma de las células contenidas en la región miomatosa estaba aumentada.

Esta observación correlaciona con el posible efecto inductor de proliferación celular que se sabe tienen los estrógenos; llamo mucho la atención el hecho de que la expresión de los receptores alfa fuera similar en las regiones tanto sanas como fibrosas. Se sabe que el receptor alfa tiene una función más bien represora de muchas de las actividades que se le achacan al estradiol. Uno hubiese esperado encontrar mayor expresión de este receptor en la zona de miomas. Estos resultados podrían parecer opuestos a lo que reporta la literatura la cual menciona que hay una sobreexpresión de ambos tipos de receptores en los miomas en comparación con tejido sano; sin embargo, cabe aclarar que dichos estudios pueden ser refutados en base a dos observaciones. La primera es que nosotros, en oposición a los otros estudios, efectuamos la determinación de receptores en la misma biopsia, y segundo, que nuestras pacientes tienen características que corresponden a mujeres con manifestaciones de síndrome metabólico, lo cual por definición, conlleva un incremento en la expresión y producción de factores de crecimiento, razón por las cuales creemos que nuestros resultados son diferentes. A la vez, y debido a esta última consideración, decidimos evaluar la expresión de receptores de insulina, la expresión de los cuales está severamente afectada en los pacientes que tienen síndrome metabólico bien establecido. Nuestros resultados demostraron que en la zona de fibrosis había un aumento en la expresión, principalmente a nivel del núcleo, de receptores de insulina en comparación con las zonas de tejido sano de la misma biopsia. Los mecanismos reguladores de homeostasis hacen suponer que en el tejido sano de un útero sano existe un equilibrio en la expresión entre la cantidad de receptores alfa y beta así como de insulina; también está claro que otros factores de crecimiento, asociados al proceso inflamatorio, como por ejemplo el factor de crecimiento derivado de fibroblastos, o el factor de crecimiento epidérmico, u otros más que se han mencionado en la literatura, también juegan un papel regulador o disruptor de la homeostasis del músculo presente en el útero.

En un intento por integrar esta información con la literatura, creemos que los miomas podrían considerarse también como parte constitutiva del síndrome metabólico, o al menos, como un agregado a las manifestaciones clínicas del mismo (41, 42). Se sabe que si se efectuaran autopsias a todas las mujeres que mueren por la causa que sea, es probable que se encontrarían miomas en más de la mitad de todas ellas, esto es lógico si consideramos la enorme presión de proliferación que tiene el útero, como órgano, mes con mes.

Si a esta característica, le añadimos la presencia de otros factores que también inducen producción de factores de crecimiento, tal y como se observa en el síndrome metabólico, no es raro que nuestros resultados sean esperados.

A raíz de esto, la propuesta terapéutica sería reforzar la terapia con análogos de GnRH, la cual inhibe la expresión de receptores de insulina, pero con una mayor vida media y preservar el uso de medicamentos antiprogesterinas en estas pacientes. El problema es que solo el 30% de las mujeres desarrollan miomas con manifestaciones clínicas, al restante 70% no se les puede ofrecer en la actualidad nada. Propongo que se efectuara como parte del programa de prevención de cáncer cervicouterino, además de la citología exfoliativa teñida con técnica de papanicolaou, un ultrasonido de útero para detectar lesiones tempranas.

REFERENCIAS

1. - Vollenhoven B. Introduction: the epidemiology of uterine leiomyomas. *Baillières Clin Obstet Gynecol* 1998; 12: 169 - 175
2. - Vollenhoven BJ, Lawrence AS Healy DL. Uterine fibroids: a clinical review. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97: 285 - 298
3. - Wilcox LS, Koonin LM, Pokras R Strauss LT, Xiaerson HB. Hysterectomy in the United States, 1988 – 1990. *Obstet Gynecol* 1994; 83: 549 - 555
4. - Gambone JC, Reiter RCRC, Lench JB, Moore JB. The impact of quality assurance procces on the frequency and confirmation rate of hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 183: 545 -550.
- 5.- Parazzini F, La Vecchia C. Negri E, Cecchetti G, Fedelo L. Epidemiologic characteristics of women with uterine fibroids a case- control- study. *Obstet Gynecol* 1988; 72: 853 - 857
- 6.- Shikora SA, Niloff JM, Bistran BR, Forse RA, Blackburn GL. Relationship between obesity and uterine leiomyomta. *Nutrition* 1991; 7: 251 - 255
7. - Sato F, Nishi M, Kudo R, Miyake H. Body fat distribution and uterine leiomyomas. *J. Epidermol* 1998; 8: 176 - 180.
- 8.- Schwatz SM, Voigt, L, Tickman E, Yarbrow P, Daling J, Scholes D. Familial aggregation of uterine Leiomyomata. *Am J Epidemiol* 2000; 151: S10
9. - Gordon P. Flake, Janet Andersen, and Darlene Dixon. Etiology and Pathogenesis of Uterine Leiomyomas: A Review. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111 (8): 1037 – 1057
10. – Rein MS and Nowak RA. Biology of uterine myomas and myometrium in viro. In Barbieri RL (ed) *Seminars in productive Endocrinology*. Thieme, New York 1992; 310 - 319
- 11.- Andersen J, Dyreyes V, Barbieri R, Coachman D, Miksicek R. Leiomyoma primary cultures have elevated transcriptional response to estrogen compared with autologous myometrial cultures. *J Soc Gynecol Invest* 1995; 2: 542 - 551
12. - K D Burroughs, S R Howe, Y Okbo, R Fuchs-Young, D LeRoith and Walker. Dysregulation of IGF - I signaling in uterine leiomyoma, *Journal of Endocrinology* 2002; 172: 83 – 93

13. - Brandon DD, Bethea CL, Strawn EY, Novy MJ, Burry KA, Harington MS, Erickson TE, Warner C, Keenan EJ and Clinton GM. Progesterone receptor messenger ribonucleic acid and protein are overexpressed in human uterine leiomyomas. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169, 78 - 85
14. - Brandon DD, Erickson TE, Keenan EJ and Clinton GM. Estrogen receptor gene expression in human uterine leiomyomata. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80, 1876 - 1881
15. - Carr B, Marshburn PB; Weatherall PT. An evaluation of the effects of gonadotropin- releasing hormone analogues and medroxyprogesterone acetate on uterine leiomyomata volume by magnetic resonance imaging: a prospective, randomized, double- blind, placebo- controlled, cross-over trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1217 - 1223
16. - Lumbiganon P, Rugpo S, Phandhu- Fung S, Laopaibbon M, Vudikamraksa N, Wrawlakul Y. Protective effect of depot medroxyprogesterone acetate on surgically treated uterine leiomyomas: a multicentre case-control study. *Br J Obstet Gynecol* 1995; 103: 909 – 14
17. - Friedman AJ, Lobel SM, Rein MS. Efficacy and safety consideration in women with uterine leiomyomas treated with gonadotropin – releasing hormone agonist: the estrogen threshold hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1114 -1119
- 18.- Eitetz J, Genz T, Pollow K, Schmidt- Gollwitzer M. Sex steroid levels in serum, myometrium, and fibromyomata in correlation with cytoplasmic receptors and fibromyomata in correlation with cytoplasmic receptors and 17 beta- HSD activity in different age-groups and phases of the menstrual cycle. *Arch Gynecol* 1980, 229: 13 - 28
- 19.- Liehr JG, Ricci MJ, Jefcoate CR, Hanniga EV, Hokanson JA, Zhu BT. 4 Hydroxylation of estradiol by human uterine myometrium and myoma microsomas: implications for the mechanism of uterine tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9220 - 9224
20. - Zhu BT, Conney AH. Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1 - 27
21. - Strawn EY, Jr., Burry KA, Bethea CL. Insulin-like growth factor I promotes leiomyoma cell growth in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172.1837-1843; discussion 1843 - 1854

22. - Vollenhoven BJ, Herrington AC, Healy DL. Messenger ribonucleic acid expression of the insulin like growth factors and their binding proteins in uterine fibroids and myometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1106 - 1110
23. - Dixon D, He H, Hasemn JK. Immunohistochemical localization of growth factors and their receptors in uterine leiomyomas and matched myometrium. *Environ Health Perspect* 2000; 108 suppl 51: 795 – 802
24. - Andersen J. Growth factors and cytokines in uterine leiomyomas. *Sem Reprod Endocrinol* 1996; 14: 269 – 282
25. -Takashi Yamada, Sathi Nakago, Osamu Kurachi, Jiain Wang, Shigeki Takekida, Hiroya Matsuo and Takeshi Maruo. Progesterone down regulates insulin-like growth Factor-1 expression in cultured human uterine leiomyomas cells. *Human Reproduction* 2004; 19 (4): 815- 821
- 26.- Boehm KD, Daimon M, Gorodeski IG, Sheean LA, Utiah WH, Llan J. Expression of the insulin-like and platelet-derived growth factor genes in human uterine tissues. *Mol Reprod Dev* 1990; 27: 93 - 101
- 27.- Hoppener JW, Mosselman S, Roholl P J, Lambrechts C, Slebos RJ, de Pegter- Holthulzen P, et al. Expression of insulin-like growth factor- I and genes in human smooth muscle tumours *Embo* 1998; 7: 1379 - 1385
28. - Strawn EY, Novy MJ, Burry KA, Bethea CL. Insulin – likes grown factor I promotes leiomyoma cell growth in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1837 - 1844
29. - Howe SR, Pass HI, Ethier SP, Matthews WJ, Walker C 1996 Presence of an insulin – like groth factor I autocrine loop predicts uterine fibroid responsiveness to tamoxifen. *Cancer* 1996; Res 56: 4049 - 4055
30. - Van Der Ven LTM, Gloudemans T, Bloemen RJ, Roholl PJM, Sussenbach JS, Otter WD. Growth advantage of human leiomyoma cells compared to normal smooth – muscle cells due to enhanced sensitivity towards insulin – like growth factor I. *Int J Cancer* 1994; 59:427 – 434
31. – Gao Z, Matsuo H, Nakago S, Kurachi O and Maruo T (2002) p53 tumor supressor protein content in human uterine leiomyomas and its down – regulation by 17 B – estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 3915 – 3920.

- 32.- Matsua H, Maruo T, Samoto T. Increased expression of BCL-2 protein in human uterine leiomyoma and its up-regulation by progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 293 - 299
33. - Daly DC, Walters CA, Prior JC, Kuslis ST, Chapilis J, Andreoli, J, et al. Prolactin production from proliferative phase leiomyom. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 148: 1059 - 1063
34. - Sauro MD, Zorn NE, Prolactin induces proliferation of vascular smooth muscle cells through a protein kinase C-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 1991; 48: 133 - 138
35. - Andersen J, 1998. Factor in fibroid growth. *Bailleres Clin Obstet Gynecol* 12: 225 - 243
36. - Zhijian Go, Hiroya Matsuo, Yin Wang, Satoshi Nakago, Takshi Maruo. Up - regulation by IGF-I of proliferating cell nuclear antigen and Bcl-2 protein expression in human uterine leiomyoma cell. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001, 86 (11): 5593 - 5599
37. - Rein MS, Freidman AJ, Pandain MR, Heffner LJ. The secretion of insulin-like growth factor I and by explanted cultures of fibroids and myometrium from women treated with a gonadotropin - releasing hormone agonist. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 388 - 394
- 38.- Guidice LC, Irwin JC, Dsupin BA, Pannier EM, Jin IH, Vu TH, Hoffmann AR. Insulin- like growth factor (IGF), IGF, binding protein (IGFBP), and IGF receptor gene expression and IGFBP synthesis in human uterine leymyomata. *Human Reprod* 1993; 8: 1796 – 1806
39. - Andrea Di Lieto, Francesca Iannotti, Marianna De Falco, Stefania Staibano, Fabrizio Pollio, Francesca Ciociola, Gaetano De Rosa. Immunohistochemical detection of Insulin-Like growth factor type I receptor and uterine volume changes in gonadotropin releasing hormone analog- treated uterine leiomyomas. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188 (3): 702- 706
40. – Yong – Woo Park, MD PhD; Shankuan zhu, MD, PhD; Latha Palaniappan, MD; Stanley Heshka, PhD; Mercedes R. Carnethon, PhD; Steven B. Heymsfield, MD Prevalence and associated risk factor findings in the US population from the third national health and nutrition examination survey, 1988 – 1994. *Arch Intern Med* 2003; 163: 427 – 436
41. – Expert panel on Detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adult. *JAMA* 2001; 285: 2486 – 2497
42. – A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome two proposed definitions. *Diabetes Care* 2003; 26: 575 – 581