

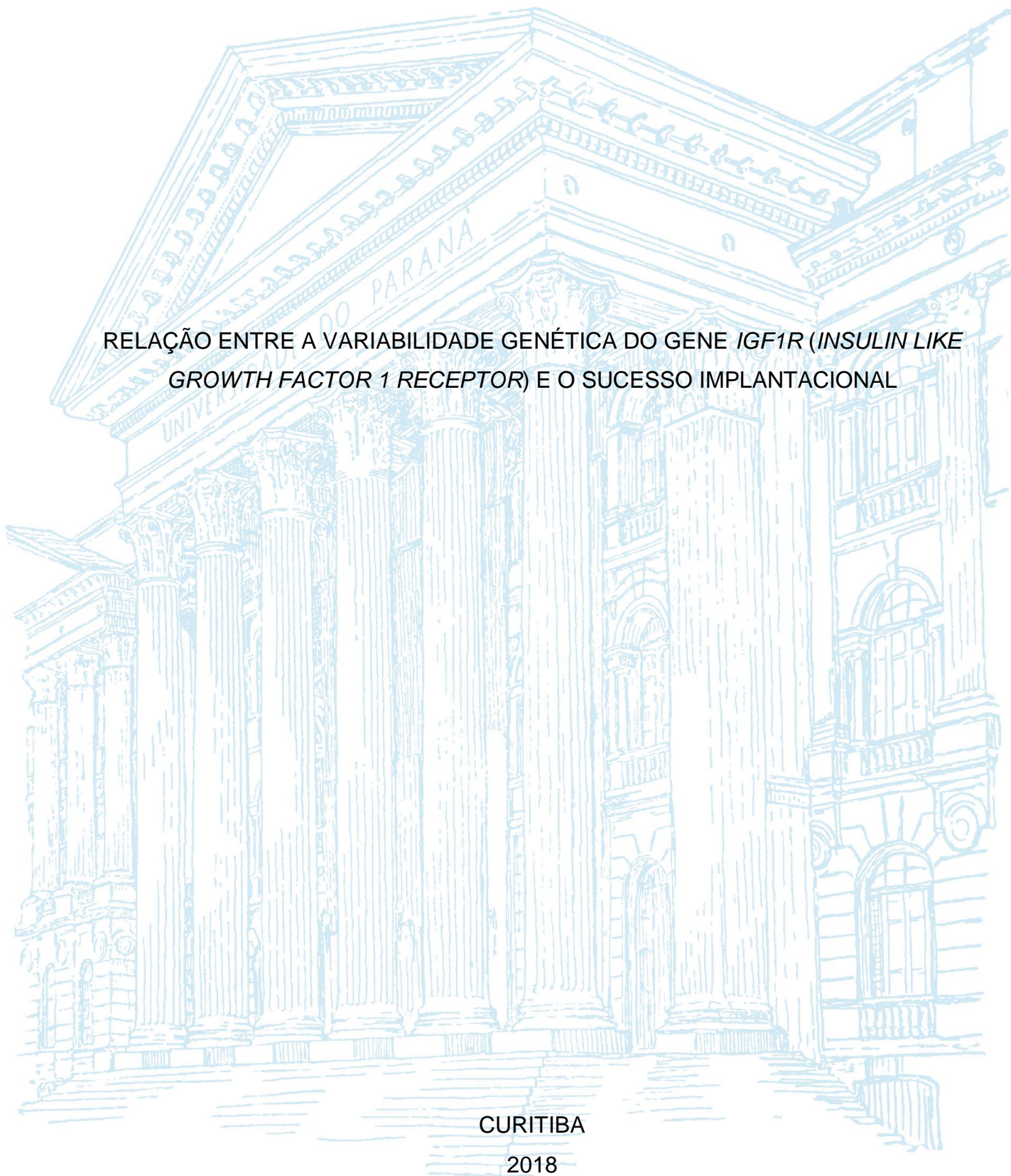
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NICOLE CRISTINE KERKHOVEN

RELAÇÃO ENTRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO GENE *IGF1R* (INSULIN LIKE GROWTH FACTOR 1 RECEPTOR) E O SUCESSO IMPLANTACIONAL

CURITIBA

2018



NICOLE CRISTINE KERKHOVEN

RELAÇÃO ENTRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO GENE *IGF1R* (*INSULIN LIKE GROWTH FACTOR 1 RECEPTOR*) E O SUCESSO IMPLANTACIONAL

Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) apresentado ao curso de Graduação em Biomedicina, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria da Graça Bicalho

CURITIBA

2018

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rose e Valmir, que me deram apoio incondicional durante estes 5 anos (e, na verdade, durante toda a minha vida), mesmo que por muitas vezes estivessem a milhares de quilômetros. A eles, que sempre acreditaram em mim e me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos, que me ouviram chorar ao telefone dizendo que eu já não aguentava mais e me deram palavras de conforto, que abriram mão de vários dos próprios sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

À minha irmã, Jéssica, que por muitas vezes me fez rir quando eu já não achava mais graça de nada. À ela, que me fez querer ser o melhor exemplo de irmã, de estudante e de pessoa, que me fez sempre dar o meu melhor, como forma de incentivo para que ela também não desistisse dos próprios sonhos.

À Prof. Dra. Joana Léa Meira Silveira que, desde o primeiro semestre do curso, viu algo em mim que nem eu mesma via e me ajudou a dar os primeiros passos na pesquisa científica.

À Dra. Shayla, que na época que a conheci ainda era mestranda, pela amizade, pelas risadas, pelos abraços e pelos conselhos, e também por confiar no meu potencial como pesquisadora e me ajudar a desenvolvê-lo.

A todas as amigas que eu fiz no departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, que tornaram esses anos de faculdade muito mais agradáveis e descontraídos.

À Prof. Dra. Maria da Graça Bicalho, que aceitou me orientar, confiou em mim e me deu liberdade para escolher qual seria o tema deste trabalho.

Aos membros do Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade (LIGH), em especial à Renata, ao Samuel, à Maria Eduarda e à Suelen, que foram muito solícitos em me auxiliar com qualquer questionamento que eu tivesse.

À Prof. Dra. Lupe Furtado Alle, à Geórgia, à Rafaela e à Meire, que separaram, por diversas vezes, um tempinho do dia corrido delas para conversar comigo sobre o meu projeto e me dar uma luz de que caminho seguir.

À Dra. Luciane, que se prontificou em avaliar o meu projeto de TCC, que me deu sugestões e conselhos muito pertinentes.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida nestes anos de universidade, sejam professores ou alunos, as que se foram e as que permaneceram nela. Vocês contribuíram para a pessoa que eu sou hoje.

Ao Colégio Militar de Brasília, que foi o meu local de estudo durante 7 anos, da quinta série do ensino fundamental ao terceiro ano do ensino médio. Que não foi apenas o meu local de estudo, mas uma segunda casa, onde me senti acolhida por professores e colegas de turma, onde criei amizades que, apesar de não tão próximas nos últimos tempos, levo no meu coração com muito carinho. Ao CMB, pelos valores a mim ensinados: a camaradagem, a busca incansável pelo conhecimento, a disciplina consciente, a competitividade saudável e o respeito a todas as pessoas.

Ao amor da minha vida, Dr. Cleverton Pirich, por me acalmar nos dias em que eu achava que não iria conseguir dar conta de terminar o TCC, por me fazer comidas gostosas enquanto eu escrevia este trabalho, por ir dormir já no meio da madrugada só para me fazer companhia enquanto eu preparava o TCC e a apresentação oral, por todas as críticas construtivas, pelo carinho e amor incondicional, mesmo quando eu estava rabugenta e estressada, por ser calma, enquanto eu era tempestade e, principalmente, por ter entrado na minha vida e mudado ela para sempre.

*"I think and think for months and years.  
Ninety-nine times, the conclusion is false.  
The hundredth time I am right."*

*Albert Einstein.*

## RESUMO

Uma queda drástica na fertilidade humana foi reportada nos últimos 40 anos, consequentemente aumentando o interesse pelo estudo dos fatores que influenciam na fertilidade. Dentre os principais eventos do processo reprodutivo encontra-se a implantação embrionária, processo essencial para o posterior sucesso gestacional. Fatores de crescimento produzidos tanto pelo embrião quanto pelo trato reprodutivo feminino suportam o desenvolvimento embrionário, que é sincronizado com a receptividade uterina, para assegurar a habilidade de implantação. Dentre os fatores de crescimento relacionados com a implantação embrionária estão os fatores de crescimento semelhantes à insulina do tipo 1 e 2 (IGF1 e IGF2). Os efeitos biológicos de IGF1 e IGF2 são mediados pela ligação ao receptor de IGF do tipo 1 (IGF1R). A investigação de variantes genéticas no gene *IGF1R* pode contribuir para a compreensão do sucesso ou insucesso reprodutivo. Desse modo, neste trabalho foi realizada uma revisão da literatura científica a respeito da possível influência de variantes genéticas no gene *IGF1R* na implantação embrionária. Para tal, foram realizadas buscas em revistas científicas e bancos de dados abrangendo publicações de todos os anos. Primeiramente foram revisados temas e conceitos de primordial importância para o entendimento da relação entre *IGF1R* e a implantação embrionária. Dentre os temas abordados encontram-se: a infertilidade e suas causas; o desenvolvimento pré-implantacional e implantação embrionária; os fatores de crescimento relacionados a implantação embrionária; os componentes do sistema IGF; a estrutura e funções da proteína IGF1R; estrutura, expressão e variabilidade genética do gene *IGF1R* e miRNA que tem o gene *IGF1R* como alvo. Em uma segunda parte da revisão, foram destacados trabalhos científicos que suportam a hipótese de que IGF1R desempenha papel fundamental na implantação embrionária. A literatura científica evidencia a expressão de *IGF1R* em embriões, desde a fecundação até a implantação embrionária, bem como a baixa variabilidade genética nos genes da família IGF, a ausência de mutações homozigotas no gene *IGF1R* em seres humanos e a sugestão de que a completa inativação de *IGF1R* seja letal. Da mesma maneira, estudos científicos evidenciam alterações na expressão de miRNA durante o desenvolvimento e implantação embrionária. Dentre os miRNA diferencialmente expressos durante a implantação embrionária está miRNA-145, que tem o gene *IGF1R* como alvo. Há ainda literatura que demonstra uma alteração na expressão de miRNA-145 em mulheres que apresentam falha recorrente da implantação embrionária, sugerindo que o principal mediador desta alteração seja IGF1R. Contudo, apesar de haverem inúmeros estudos que sugeriram um papel fundamental de IGF1R na implantação embrionária, até o presente momento não foram encontrados relatos na literatura científica de associação entre variantes genéticas no gene *IGF1R* e o sucesso ou falha implantacional. Sugere-se que a região 3'-UTR do gene *IGF1R* é uma região de interesse para futura avaliação de associação entre variabilidade genética e implantação embrionária, visto que apresenta diversos polimorfismos com alta MAF (frequência alélica mínima) e é uma região comprovadamente regulada por miRNA, inclusive miR-145, que tem expressão comprovadamente alterada em mulheres que sofrem falha recorrente de implantação.

Palavras-chave: IGF1R. Implantação. Fertilidade. Variabilidade genética.

## ABSTRACT

A drastic decay in human fertility has been reported in the last 40 years, consequently increasing the interest in studying the factors that influence fertility. Among the main events of the reproductive process, there is the blastocyst implantation, an essential process for further successful pregnancy. Growth factors produced by both the female reproductive tract and the embryo support development of the blastocyst, which is synchronized with uterine receptivity, to ensure blastocyst implantation ability. Among the growth factor related to the implantation, there are Insulin-like Growth Factors 1 and 2 (IGF1 and IGF2). The biological effects of IGF1 and IGF2 are mediated by binding to IGF receptor type 1 (IGF1R). The investigation of genetic variants in *IGF1R* gene may contribute to the understanding of reproductive success or failure. Thus, in this work a scientific literature review was carried out on the possible influence of genetic variants on *IGF1R* gene in the embryo implantation. In order to do so, searches were conducted in scientific journals and databases covering publications of all years. Themes and concepts of primary importance were first reviewed, for the understanding of the relationship between IGF1R and embryo implantation. Among the topics covered were: infertility and its causes; pre-implantation development and embryo implantation; growth factors related to embryo implantation; components of the IGF system; structure and functions of the IGF1R protein; structure, expression and genetic variability of *IGF1R* and miRNA that has *IGF1R* as a target. In a second part of the review, scientific papers that support the hypothesis that IGF1R plays a fundamental role in embryo implantation were highlighted. The scientific literature evidences the expression of IGF1R in embryos, from fertilization to embryonic implantation, as well as the low genetic variability in genes of the IGF family, the absence of homozygous mutations in the IGF1R gene in humans and the suggestion that the complete inactivation of IGF1R is lethal. In the same way, scientific studies evidences alterations in the miRNA expression during the development and embryonic implantation. Among miRNAs differentially expressed during embryo implantation is miRNA-145, which has the IGF1R gene as a target. There is also literature demonstrating a change in miRNA-145 expression in women who present recurrent implantation failure, suggesting that the main mediator of this alteration is IGF1R. However, despite numerous studies suggesting a fundamental role of IGF1R in embryo implantation, to date, there are no reports in the scientific literature of association between genetic variants in the IGF1R gene and implantational success or failure. It is suggested that the 3'-UTR region of the IGF1R gene is a region of interest for future evaluation of the association between genetic variability and embryo implantation, since it presents several polymorphisms with high MAF (minor allele frequency) and is a region that has been proven to be regulated by miRNA, including miRNA-145, which has proven expression altered in women suffering from recurrent implantation failure.

Key-words: IGF1R. Implantation. Fertility. Genetic variability.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	–	DIAGRAMA COM OS PRINCIPAIS EVENTOS CELULARES E MOLECULARES DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO PRÉ-IMPLANTACIONAL.....	21
FIGURA 2	–	DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO HUMANO in vitro .....	22
FIGURA 3	–	COMPONENTES DO SISTEMA IGF .....	27
FIGURA 4	–	SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS DO PRECURSOR DA PROTEÍNA IGF1R .....	31
FIGURA 5	–	DESENHO ESQUEMÁTICO DA ESTRUTURA DA PROTEÍNA IGF1R .....	32
FIGURA 6	–	ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL PROPOSTA OS RESÍDUOS 1-459 DA PROTEÍNA IGF1R HUMANA.....	33
FIGURA 7	–	DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DOS SINAIS INTRACELULARES MEDIADOS POR IGF1R.....	38
FIGURA 8	–	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA LOCALIZAÇÃO CITOGENÉTICA DO GENE IGF1R .....	39
FIGURA 9	–	CORRELAÇÃO ENTRE OS ÉXONS DO GENE IGF1R E OS DOMÍNIOS PRESENTES NA PROTEÍNA IGF1R .....	40
FIGURA 10	–	VARIANTES DE SPLICING DO GENE IGF1R.....	41
FIGURA 11	–	NÍVEIS DE EXPRESSÃO GÊNICA DE IGF1R EM DIFERENTES TECIDOS .....	43
FIGURA 12	–	VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL DE IGF1R HUMANO .....	47
FIGURA 13	–	MICROSCOPIA CONFOCAL MOSTRANDO A EXPRESSÃO DE IGF1R EM TE DE BLASTOCISTOS HUMANOS .....	53



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	–	TRANSCRITOS DO GENE IGF1R.....	41
TABELA 2	–	VARIANTES GENÉTICAS PRESENTES NO GENE IGF1R DE ACORDO COM TIPO DE VARIAÇÃO GENÉTICA.....	50
TABELA 3	–	VARIANTES GENÉTICAS PRESENTES NO GENE IGF1R DE ACORDO COM MAF GLOBAL E SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA .....	51
TABELA 4	–	SNPs DO ÉXON 21 DO GENE IGF1R QUE APRESENTAM MAF>0,1 .....	52
TABELA 5	–	miRNAs EXPRESSOS NO ENDOMÉTRIO E NO EMBRIÃO E SEUS GENES ALVO .....	56

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- AKT – proteína kinase B, do inglês, *protein kinase B*
- ALS – subunidade ácido-lábil, do inglês, *acid-labile subunity*
- ART – tecnologias de reprodução assistida, do inglês, *assisted reproductive technology*
- ASK – kinase reguladora de sinal de apoptose, do inglês, *apoptoses signal-regulating kinase*
- AURKA – Aurora Kinase A
- BAD – agonista de morte celular associado a BCL2, do inglês, *BCL2-associated death promoter*
- BDNF – fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês, *brain-derived neurotrophic factor*
- C-tail – cauda carboxi terminal, do inglês, *carboxi-terminal tail*;
- Cys-rich – domínio rico em cisteína, do inglês, *cystein-rich region*
- dbSNP – banco de dados de SNP, do inglês, *SNP data bank*
- DNA – ácido desoxirribonucleico, do inglês, *deoxyribonucleic acid*
- EGA – Ativação genômica embrionária, do inglês, *embryonic genome activation*
- EGF – fator de crescimento epidérmico, do inglês, *epidermal growth factor*
- EGFR – receptor de EGF, do inglês, *EGF Receptor*
- Epi – epiblasto precoce, do inglês, *epiblast*
- ERK – kinases relacionada a sinal extracelular, do inglês, *extracelular signal-related kinase*
- FnIII-1 – domínio 1 de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 1*
- FnIII-2a – domínio 2a de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 2a*
- FnIII-2b – domínio 2b de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 2b*
- FnIII-3 – domínio 3 de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 3*
- GRB2 – proteína 2 ligada ao receptor do fator de crescimento do inglês, *growth factor receptor-bound protein 2*
- GM-CSF – fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*
- HB-EGF – fator de crescimento semelhante a EGF de ligação à heparina, do inglês, *heparin-binding EGF-like growth factor*

ICSI – injeção intracitoplasmática de espermatozoides, do inglês, *intracytoplasmic sperm injection*

ICM – massa celular interna, do inglês, *inner cell mass*

IGF – fator de crescimento semelhante à insulina, do inglês, *insulin-like growth factor*

IGF1R – receptor de IGF do tipo 1, do inglês, *IGF type 1 receptor*

IGF2R – receptor de IGF do tipo 2, do inglês, *IGF type 2 receptor*

IGFBP – proteína de ligação a IGF, do inglês, *IGF binding protein*

IR – receptor de insulina, do inglês, *insulin receptor*

kb – quilobase, correspondente a 1000 pares de base

kDa – quilodaltons, correspondente a 1000 daltons

IVF – fertilização *in vitro*, do inglês, *in vitro fertilization*

IRS – elementos de resposta a insulina, do inglês, *insulin receptor substrate*

JM – região justamembrana, do inglês, *justamembrane region*

L1 – domínio grande 1, do inglês, *large domain 1*

L2 – domínio grande 2, do inglês, *large domain 2*

LIF – fator inibidor de leucemia, do inglês, *leukemia inhibitory factor*

LIFR – receptor de LIF, do inglês, *LIF receptor*

MAPK – proteína quinase ativada por mitogênio, do inglês, *mitogen activated protein kinase*

MAPKKK – MAPK kinase kinase

MEK – proteína kinase kinase ativada por mitogênio, do inglês, *mitogen-activated protein kinase kinase*

miRNA – micro RNA

NCBI – centro nacional para informação biotecnológica, do inglês, *national center for biotechnology information*

nsSNP – SNP não sinônimo, do inglês, *non-synonymous SNP*

PAFR – receptor do fator de ativação plaquetária, do inglês, *platelet activating factor receptor*

PAPPA – proteína plasmática A associada à gravidez, do inglês, *pregnancy-associated plasma protein A*

pb – pares de base

PDGF – fator de crescimento derivado de plaquetas, do inglês, *platelet-derived growth factor*

PI3K/AKT – fosfatidil-inositol-3-kinase/proteína kinase B, do inglês, *phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B*

PrE – endoderma primitivo do inglês, *primitive endoderm*

RNA<sub>m</sub> – RNA mensageiro, do inglês, *messenger RNA*

SNP – polimorfismo de nucleotídeo único, do inglês, *single nucleotide polymorphism*

sSNP – SNP sinônimo, do inglês, *synonymous SNP*

TE – trofotoderma epitelial

TGF – fator de transformação do crescimento, do inglês, *transforming growth factor*

TM – região transmembrana, do inglês, *transmembrane region*

VEGF – fator de crescimento do endotélio vascular, do inglês, *vascular endothelial growth factor*

VEGFR – receptor de VEGF, do inglês, *VEGF Receptor*

WOI – janela de implantação, do inglês, *window of implantation*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	15
2.1	OBJETIVO GERAL .....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	16
<b>4</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
4.1	INFERTILIDADE .....	18
4.2	DESENVOLVIMENTO PRÉ-IMPLANTACIONAL E IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA.....	19
4.3	FATORES DE CRESCIMENTOS RELACIONADOS À IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA.....	24
4.4	SISTEMA IGF .....	26
4.5	PROTEÍNA IGF1R .....	29
4.5.1	Estrutura da proteína IGF1R.....	29
4.5.2	Funções da proteína IGF1R .....	33
4.6	SINALIZAÇÃO INTRACELULAR DE IGF1R .....	36
4.7	GENE <i>IGF1R</i> .....	39
4.7.1	Estrutura do gene <i>IGF1R</i> .....	39
4.7.2	Expressão do gene <i>IGF1R</i> .....	42
4.7.3	Variabilidade genética do gene <i>IGF1R</i> .....	44
4.7.4	miRNAs que tem como alvo o gene <i>IGF1R</i> .....	52
4.8	INFLUÊNCIA DE IGF1R NA IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA .....	53
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	58
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	59

## 1 INTRODUÇÃO

O processo reprodutivo, desde a produção dos ovócitos até a gestação, envolve inúmeras modificações no organismo feminino, incluindo alterações anatômicas, endócrinas, fisiológicas e imunes, que trabalham em conjunto para permitir o correto desenvolvimento embrionário (SHIH-YIN et al., 2011).

Dentre os principais eventos do processo reprodutivo encontra-se a implantação embrionária, processo essencial para o posterior desenvolvimento embrionário e fetal, além do sucesso gestacional (NIAKAN et al., 2012). A implantação é um evento altamente coordenado, no qual o endométrio receptivo é preparado para receber um embrião em estágio de blastocisto competente para adesão. Fatores de crescimento produzidos tanto pelo embrião quanto pelo trato reprodutivo feminino suportam o desenvolvimento do blastocisto para um estado competente para adesão, o qual é sincronizado com a receptividade uterina, para assegurar a habilidade de implantação do blastocisto (PSYCHOYOS, 1973; GIUDICE et al., 1993; TABIBZADEH & BABAKNIA, 1995; SIMON et al., 1999; WANG et al., 2000; ARMANT, 2005; THOUAS et al., 2015).

Dentre os fatores de crescimento relacionados com a implantação embrionária estão os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF), IGF1 e IGF2 (WHITE et al., 2018). IGF estão envolvidos com processos de proliferação, sobrevivência celular, mitogênese, transformação celular, diferenciação celular e sinais antiapoptóticos, sendo todos estes processos essenciais para a implantação e desenvolvimento embrionários (PANDEY et al., 2009; ALENCAR & LOPES, 2010). As ações das IGF são mediadas principalmente pela ligação de alta afinidade ao receptor IGF1R, uma proteína transmembrana heterotetramérica do tipo tirosina-kinase (KANG et al., 2015b).

O gene *IGF1R* está localizado na região cromossômica 15q26.3 (OMIM, 2018). *IGF1R* possui mais de 300 kb, distribuídos em 21 éxons, dos quais os 10 primeiros codificam para a cadeia  $\alpha$  e os 11 últimos codificam para a cadeia  $\beta$  da respectiva proteína (ABBOTT et al., 1992; ZERBINO et al., 2017).

Alguns estudos relatam a variabilidade populacional do gene *IGF1R* (ROTWEIN, 2017), enquanto outros associam certas variantes genéticas com restrição do crescimento intra-uterino (KLAMMT et al., 2011; GANNAGE-YARED et al., 2013; WALENKAMP et al., 2013; BURKHARDT et al., 2015; PRONTERA et al.,

2015). Um estudo realizado em mulheres grávidas chinesas mostrou que polimorfismos de *IGF1* e *IGF1R* estavam associados com perdas gestacionais espontâneas, sendo estes efeitos dependentes do *status* metabólico materno (JIAN-RONG et al., 2017). Outros autores sugeriram que a completa inativação de IGF1R é letal, (ABUZZAHAB et al., 2003; KLAMMT et al., 2008; CANNARELLA et al., 2018). No entanto, não foram encontrados, até o momento, estudos que evidenciem a associação entre variantes genéticas em *IGF1R*, a fertilidade e o sucesso implantacional.

Dada a importância funcional dos fatores de crescimento reguladores do desenvolvimento placentário e fetal (IGF1 e IGF2) para a fertilidade e para o processo implantacional, polimorfismos presentes no gene *IGF1R* podem ser compreendidos como fatores genéticos candidatos a contribuir para a variação existente entre os casais no que se refere ao sucesso reprodutivo. Diante do exposto, o presente estudo pretendeu fazer um levantamento bibliográfico sobre as evidências científicas da influência de IGF1R na fertilidade humana e na implantação embrionária.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar levantamento bibliográfico a respeito da possível relação entre a variabilidade genética no gene *IGF1R* e o sucesso implantacional.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar busca na literatura científica por artigos que:

- a) Correlacionem a funcionalidade da proteína IGF1R com a fertilidade;
- b) Associe a funcionalidade da proteína IGF1R com a implantação embrionária;
- c) Descrevam a variabilidade genética no gene *IGF1R*;
- d) Determinem associação ou correlação entre variantes genéticas no gene *IGF1R* e falhas na implantação embrionária;
- e) Sumarizem dados que demonstrem a regulação da expressão do gene *IGF1R*, mais especificamente por miRNAs que se liguem à região 3'-UTR;



### 3 METODOLOGIA

Este trabalho consistiu em uma busca da literatura científica, na qual foram levantados dados a respeito da fertilidade humana, o processo de implantação embrionária e os fatores que a influenciam, em específico a influência da proteína IGF1R neste processo.

Para tal, foram utilizadas plataformas de acesso a revistas científicas e bancos de dados como PubMed, SciELO, ScienceDirect, Ensembl, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Genetics Home reference (GHR) e dbSNP. As buscas abrangeram publicações científicas de todos os anos, utilizando-se as seguintes palavras-chave separadamente ou em combinação: infertilidade, desenvolvimento embrionário, implantação embrionária, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), proteína IGF1R, gene *IGF1R*, SNP, miRNA, entre outras.

A revisão bibliográfica foi dividida em duas partes. Na primeira parte, foram abordados temas e conceitos fundamentais para um melhor entendimento de como IGF1R poderia estar influenciando no sucesso implantacional, tais como:

- a) O que é infertilidade e quais são as causas já conhecidas para a infertilidade?
- b) Como ocorre o desenvolvimento embrionário antes da implantação no útero materno?
- c) Como ocorre a implantação embrionária e quais as moléculas que estão envolvidas neste procedimento?
- d) Quais são os componentes do sistema IGF?
- e) Como é a estrutura da proteína IGF1R e quais suas funções fisiológicas?
- f) Como a proteína IGF1R sinaliza intracelularmente para desencadear suas funções biológicas?
- g) Como é o gene que codifica a proteína IGF1R?
- h) Em quais locais o gene *IGF1R* está expresso?
- i) Qual a variabilidade genética já reportada na literatura para o gene *IGF1R*?
- j) Existem miRNAs que se ligam ao gene *IGF1R*?

Na segunda parte, através de dados reportados na literatura científica, as seguintes perguntas serviram de base para elaboração da revisão:

- a) Como a proteína IGF1R poderia estar influenciando na implantação embrionária?

b) Variações no gene *IGF1R* poderiam estar relacionados a problemas na implantação embrionária?

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 INFERTILIDADE

Infertilidade é definida como a incapacidade de casais em conceberem um filho após um ano de tentativas recorrentes e sem o uso de métodos anticoncepcionais de barreira ou hormonais (ZEGERS-HOCHSCHILD et al., 2017). A infertilidade é uma doença complicada, delicada e que reduz a qualidade de vida. Ao redor do mundo, infertilidade afeta de 10-30% dos casais que estão tentando conceber filhos (PILMANE & FODINA, 2010; TANG et al., 2016).

A infertilidade pode se dar por causas femininas, masculinas ou do casal. Exemplos de causas de infertilidade que podem afetar ambos os sexos são: hipogonadismo hipogonadotrófico, hiperprolactinemia, distúrbios da função ciliar, fibrose cística, infecções, doenças sistêmicas (como diabetes e doença celíaca descontroladas e doenças autoimunes) e condições relacionadas com o estilo de vida (como restrição dietária, estresse, obesidade, fumo, álcool, dentre outros). Causas de infertilidade feminina podem ser exemplificadas com endometriose, insuficiência ovariana prematura, síndrome dos ovários policísticos, fibrose uterina e pólipos endometriais. Causas de infertilidade masculina englobam deficiência testicular, varicocele, disfunção ejaculatória e obstrução do caminho do espermatozoide (VANDER BORGHT & WYNS, 2018). Há ainda indivíduos com infertilidade sem causa aparente, onde se sugere a existência de desregulação a nível molecular e genético.

Em mulheres sem razão evidente para a infertilidade, tendo ciclos ovulatórios normais, perfis hormonais normais, não apresentando patologias em nenhum órgão e sem evidência de fator masculino de infertilidade, pode-se suspeitar de distúrbios na maturação endometrial, assim como distúrbios na receptividade endometrial para a implantação embrionária (ALTMAE et al., 2010).

Atrasos no desenvolvimento embrionário e implantação falha poderiam ser causados por anormalidades cromossômicas (PLACHOT et al., 1987; JAMIESON et al., 1994; MUNNÉ et al., 1995), maturação citoplasmática ou nuclear inadequada durante oogênese (MOOR et al., 1998) ou problemas na comunicação molecular materno-embrionário (SIMON & VALBUENA, 1999).

O embrião em si é responsável por apenas 1/3 das falhas implantacionais, enquanto a receptividade uterina inadequada é responsável por aproximadamente 2/3

(LEDEE-BATAILLE et al., 2002; TRONCOSO et al., 2003). Portanto, o manejo da falha de implantação recorrente (RIF, do inglês, *repeated implantation failure*) continua sendo o maior obstáculo não resolvido na medicina reprodutiva, e é considerada também a principal causa em mulheres sem causa aparente de infertilidade (MARGALIOTH et al., 2006; KOLER et al., 2009; MILLER et al., 2012).

Nos casos mais severos de infertilidade, especialmente quando a qualidade e quantidade das células germinativas é muito comprometida, as tecnologias de reprodução assistida (ART, do inglês, *assisted reproductive technology*) podem ser utilizadas com o fim de aumentar as chances de concepção (CEDARS, 2005). Estas tecnologias variam desde a administração de medicamentos para induzir a ovulação, à inseminação artificial ou inseminação intrauterina, até métodos de fertilização *in vitro* (IVF, do inglês, *in vitro fertilization*) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, do inglês, *intracytoplasmic sperm injection*).

E, mesmo que embriões de alta qualidade sejam transferidos durante procedimentos de ART, a receptividade uterina prejudicada é conhecida como uma das maiores causas por trás da falha no estabelecimento de uma gravidez (EDWARDS, 1995; MACKLON et al., 2006).

#### 4.2 DESENVOLVIMENTO PRÉ-IMPLANTACIONAL E IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA

As primeiras clivagens do embrião pré-implantacional estão sob controle do RNAm e proteínas maternas pois a onda principal de ativação genômica embrionária (EGA, do inglês, *embryonic genome activation*) no ser humano ocorre apenas entre os estágios de 4 e 8 células, no terceiro dia do desenvolvimento embrionário, após a qual os transcritos maternos vão sendo degradados e os transcritos embrionários prevaescem (TESARIK et al., 1987; BRAUDE et al., 1988; TAYLOR et al., 1997; HÖFFMANN et al., 2005; WRENZYCKI et al., 2005; VASSENA et al., 2011).

Durante o estágio de 8 células se iniciam os processos que resultarão na formação da mórula: os blastômeros (1) se compactam, maximizando suas adesões intercelulares e levando a adoção de uma morfologia mais achatada; (2) se tornam polarizados apico-basalmente; (3) se dividem; (4) adotam uma posição mais interna ou mais externa na mórula. Estes processos são essenciais para a posterior diferenciação e especificação dos blastômeros (JOHNSON & ZIOMEK, 1981;

BRAUDE et al., 1988; HARDY & SPANOS, 2002; COCKBURN & ROSSANT, 2010; HIRATE et al., 2013; MAITRE, 2017).

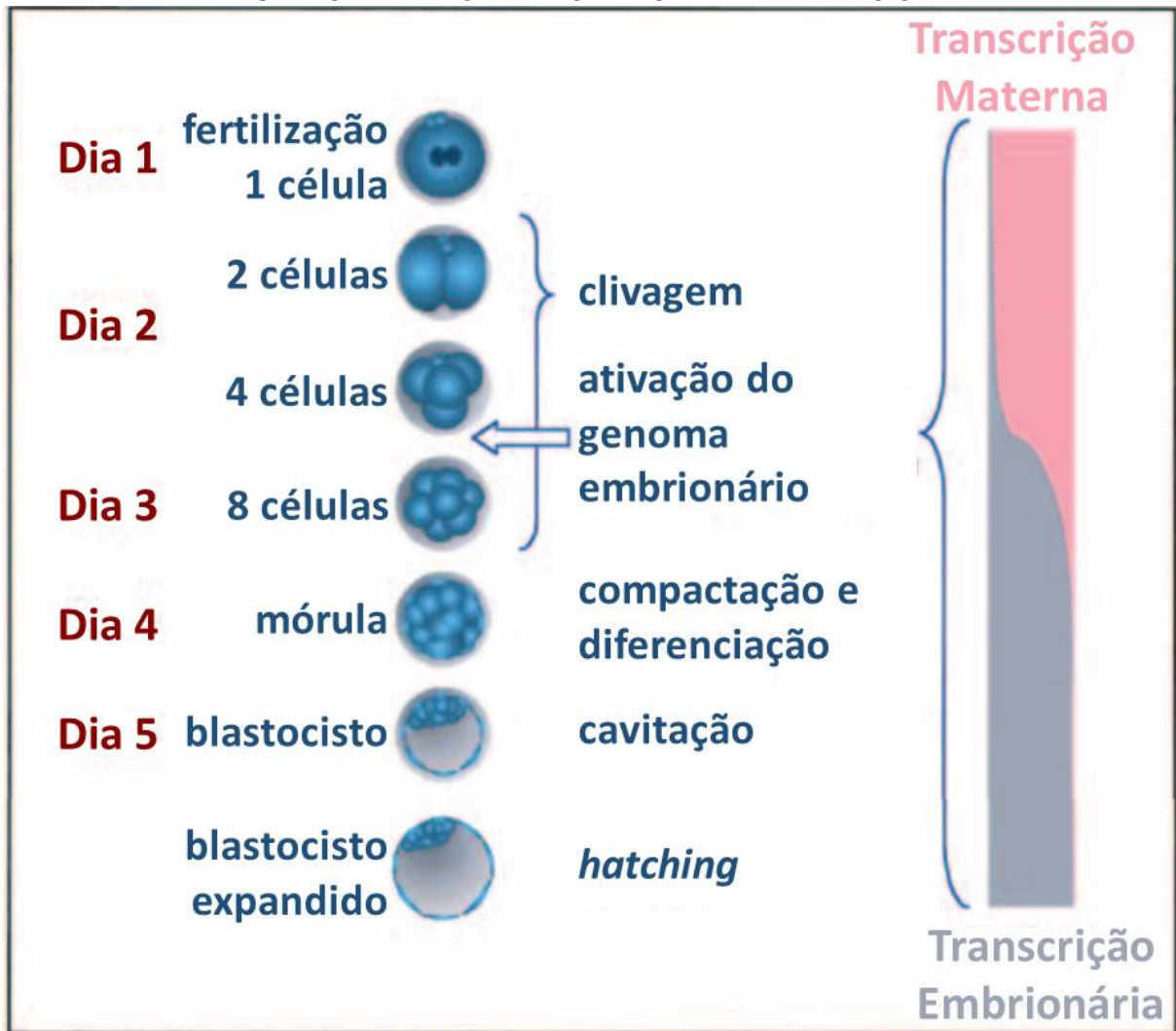
Células localizadas mais no interior do embrião recebem sinais dos contatos célula-célula (STEPHENSON et al., 2010; COCKBURN et al., 2013), os quais induzem a expressão de genes de pluripotência. Tais células darão origem à massa celular interna (ICM, do inglês, *inner cell mass*) (MAITRE, 2017). Em contrapartida, blastômeros de superfície apresentam menos contatos célula-célula que os blastômeros internos, resultando em sinais de pluripotência mais fracos. Ademais, a área de superfície celular livre de contato contém proteínas apicais, que inibem os sinais de pluripotência e promovem o início da diferenciação celular do trofotoderma epitelial (TE) (HIRATE et al., 2013; ANANI et al., 2014).

Quando o embrião atinge cerca de 32 células, ocorre a formação do blastocisto inicial, com o aparecimento de uma cavidade preenchida por fluido (HARDY & SPANOS, 2002; YAMANAKA et al., 2010; NIAKAN et al., 2012; ANANI et al., 2014; WATANABE et al., 2014). A formação do blastocisto marca a diferenciação do TE, que é especializado na implantação, e o estabelecimento da ICM, a partir do qual o feto é derivado (HARDY & SPANOS, 2002; FRANKENBERG et al., 2011; NIAKAN et al., 2012; MAITRE, 2017). TE é o primeiro tipo celular embrionário a ser especificado e diferenciado enquanto ICM é especificada e diferenciada posteriormente. Ainda antes da implantação, ICM se diferencia em epiblasto precoce (EPi, do inglês, *epiblast*) e endoderma primitivo (PrE, do inglês, *primitive endoderm*) (HARDY & SPANOS, 2002; MORRIS et al., 2010; NIAKAN et al., 2012).

Consequentemente, o blastocisto é então formado por três linhagens celulares (TE, EPi e PrE), que irão contribuir para diferentes tecidos posteriormente no desenvolvimento embrionário (COCKBURN & ROSSANT, 2010). TE irá dar origem a maior contribuição fetal da placenta, EPi dará origem ao embrião propriamente dito e PrE contribuirá para o endoderma parietal e visceral, que dará origem posteriormente ao saco vitelínico (DÍAZ-CUETO & GERTON, 2001; ORON & IVANOVA, 2012).

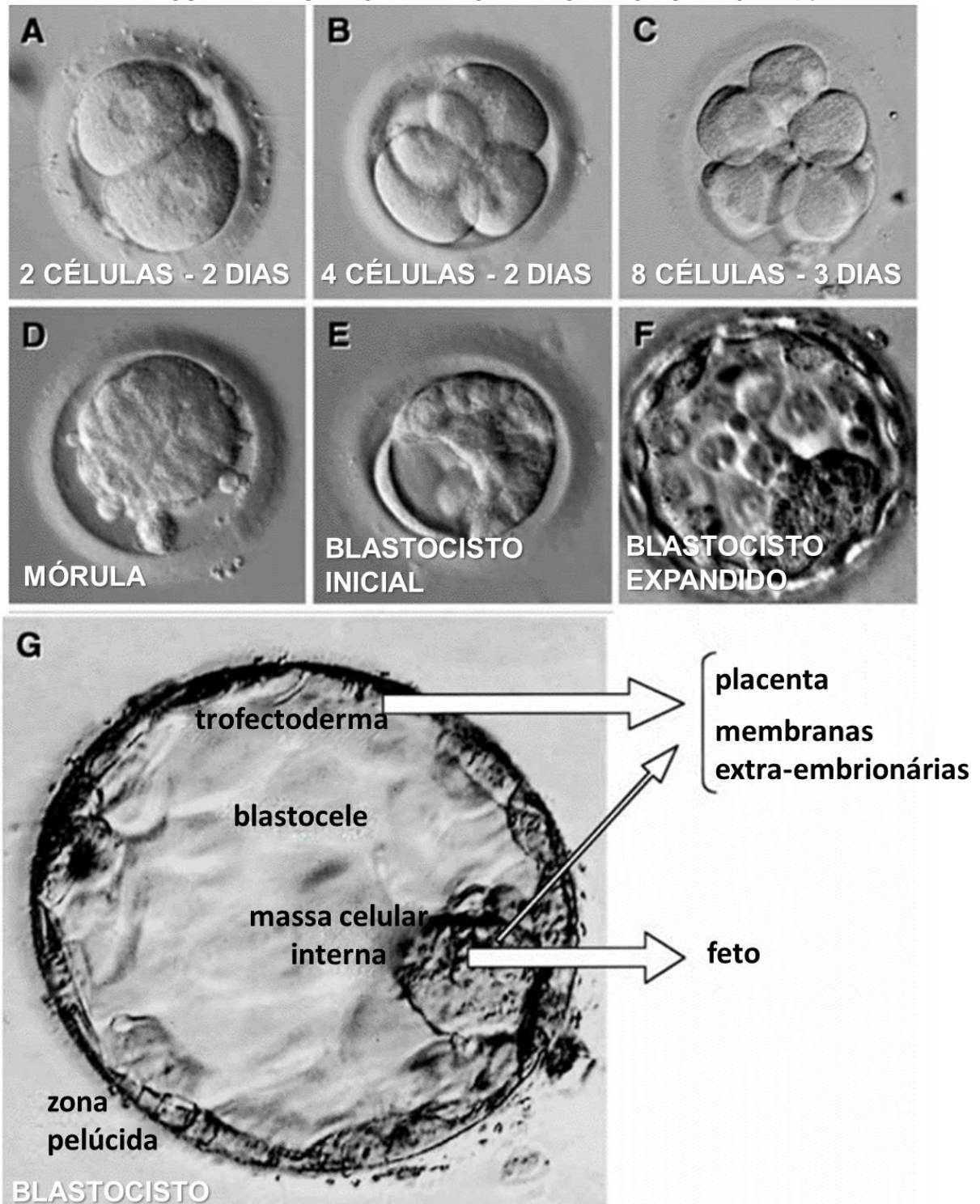
As FIGURA 1 e FIGURA 2 ilustram os principais eventos celulares e moleculares que ocorrem durante os estágios iniciais do desenvolvimento embrionário pré-implantacional.

FIGURA 1 – DIAGRAMA COM OS PRINCIPAIS EVENTOS CELULARES E MOLECULARES DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO PRÉ-IMPLANTACIONAL



NOTA: Destaca-se a ativação do genoma embrionário, onde ocorre a substituição dos transcritos maternos pelos transcritos embrionários.

FONTE: adaptado de HARDY & SPANOS (2002).

FIGURA 2 – DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO HUMANO *in vitro*

NOTA: (A): embrião com 2 células, 2 dias após a fertilização; (B): embrião com 4 células, 2 dias após a fertilização; (C): embrião com 8 células, 3 dias após a fertilização; (D): embrião em estágio de mórula, onde as células já se compactaram e maximizaram seus contatos intracelulares, 4 dias após a fertilização; (E): embrião em estágio de blastocisto inicial, com uma pequena blastocele preenchida por fluido, 5 dias após a fertilização; (F): embrião em estágio de blastocista expandido; (G): embrião em estágio de blastocisto mostrando o trofocderma e a massa celular interna, cercado da zona pelúcida.

FONTE: adaptado de HARDY & SPANOS (2002).

Notavelmente o desenvolvimento do embrião humano é ineficiente, com 50-70% de embriões rotineiramente falhando ao atingir o estágio de blastocisto *in vitro* (GARDNER et al., 2000; FRENCH et al., 2010) e mais de 50% falhando *in vivo* (HERTIG et al., 1954). Essas altas taxas de falha provavelmente refletem a baixa taxa de fecundidade em humanos em comparação a muitas outras espécies, resultando na perda embrionária pré- e pós-implantacional (EVERS, 2002; MACKLON et al., 2002).

Antes de se implantar no útero, o blastocisto passa pelo processo de *hatching*, que consiste na perda da camada protetiva de glicoproteína, a zona pelúcida. Após esse processo, a exposição física aumentada das células do TE ao epitélio das tubas uterinas e do útero permite uma melhora na sinalização parácrina, que leva o embrião em direção à aposição e ligação no local correto do endométrio uterino, iniciando o processo implantacional (HARDY & SPANOS, 2002; NIAKAN et al., 2012; THOUAS et al., 2015).

Antes da chegada do embrião, a ação de hormônios esteroides no endométrio produzem um período de receptividade, denominado janela de implantação (WOI, do inglês, *window of implantation*) (PSYCHOYOS, 1973; TABIBZADEH et al., 1987; CHA et al., 2012). Nos seres humanos, este período dura aproximadamente do dia 19 ao dia 24 do ciclo menstrual (PSYCHOYOS, 1973; ENDERS et al., 1986; BERGH & NAVOT, 1992; APLIN, 2000; APLIN & KIMBER, 2004; ACHACHE & REVEL, 2006; WANG & DEY, 2006; REVEL et al., 2011a). Passado esse tempo, o útero se torna refratário ao embrião (WANG & DEY, 2006; REVEL et al., 2011a). Neste período específico ocorre uma restrição tanto espacial como temporal da expressão de ligantes e seus receptores, tanto no blastocisto como no endométrio, que devem ser propriamente regulados para garantir o sucesso implantacional (THOUAS et al., 2015).

A implantação é um evento altamente coordenado no qual fatores de crescimento produzidos tanto pelo embrião quanto pelo trato reprodutivo feminino suportam o desenvolvimento do blastocisto para um estado competente para adesão, o qual é sincronizado com o preparo da receptividade uterina, para assegurar a habilidade de implantação embrionária (PSYCHOYOS, 1973; GIUDICE et al., 1993; TABIBZADEH & BABAKNIA, 1995; SIMON et al., 1999; WANG et al., 2000; ARMANT, 2005; THOUAS et al., 2015).



Em humanos, a implantação propriamente dita ocorre por volta do 7º dia do desenvolvimento embrionário, sendo dependente de hormônios esteroides, como progesterona e estradiol, para induzir mudanças na expressão de citocinas, e fatores de crescimento que facilitarão a receptividade uterina ao blastocisto. É também função destes hormônios induzir as células endometriais uterinas a se proliferarem, diferenciarem e secretarem moléculas que preparam o útero para acomodar o embrião. Estes processos são essenciais para o posterior desenvolvimento embrionário (GIUDICE et al., 1993; CARSON et al., 2000; NORWITZ et al., 2001; BORTHWICK, 2003; DEY et al., 2004; WANG & DEY, 2006; KOLER et al., 2009; KUOKKANEN et al., 2010; NIAKAN et al., 2012)

DOBSON e colaboradores (2004) caracterizaram o transcriptoma de embriões humanos pré-implantacionais. Estes autores demonstraram que aproximadamente 1800 RNAm têm sua expressão modulada nos 3 primeiros dias de desenvolvimento, com a maioria tendo sua expressão reduzida ou sendo marcado para destruição, um pequeno grupo apresentando um aumento na expressão nos dois primeiros dias e um grande grupo de RNAm aumentando sua abundância no terceiro dia do desenvolvimento embrionário.

Estudos prévios demonstraram que o desenvolvimento do embrião durante o período pré-implantacional é aumentado por vários fatores de crescimento que são secretados pelo embrião e pelo trato reprodutivo materno (HARDY & SPANOS, 2002).

#### 4.3 FATORES DE CRESCIMENTOS RELACIONADOS À IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA

Evidências crescentes mostram que, na maioria dos mamíferos, o desenvolvimento embrionário antes da implantação é regulado por diversos fatores de crescimento derivados tanto do embrião quanto do trato reprodutivo materno (HARDY & SPANOS, 2002; ARMANT, 2005). Durante este processo, os embriões são programados para produzir ligantes solúveis e receptores para diferentes fatores parácrinos e autócrinos (THOUAS et al., 2015).

A expressão de apenas um número limitado de fatores de crescimento foram identificados em embrião pré-implantacional humano, incluindo EGF (fator de crescimento epidérmico, do inglês, *epidermal growth factor*), HB-EGF (fator de crescimento semelhante a EGF de ligação à heparina, do inglês, *heparin-binding EGF-*

*like growth factor*), IGF1 e IGF2 (fator de crescimento semelhante à insulina 1 e 2, do inglês, *insulin-like growth factor 1 and 2*), PDGFA e PDGFB (subunidades A e B do fator de crescimento derivado de plaquetas, do inglês, *platelet-derived growth factor subunits A and B*), GM-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, do inglês, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês, *brain-derived neurotrophic factor*), LIF (fator inibidor de leucemia, do inglês, *leukemia inhibitory factor*) e VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular, do inglês, *vascular endothelial growth factor*) (CHIA et al., 1995; ÖSTERLUND et al., 1996; SMOTRICH et al., 1996; LIGHTEN et al., 1997b; LIGHTEN et al., 1997a; LIU et al., 1997a; LIU et al., 1997b; JIANG et al., 2000; KRÜSSEL et al., 2000; KRÜSSEL et al., 2001; CHOBOTOVA et al., 2002; SJÖBLOM et al., 2002; HWU et al., 2006; WÅNGGREN et al., 2007; DRAKAKIS et al., 2010; KAWAMURA et al., 2012).

Muitos receptores persistem através dos estágios de pré-compactação, com papéis na manutenção da totipotência, sobrevivência celular, formações dos eixos, via ligantes solúveis que se difundem através da zona pelúcida (EDWARDS, 1997; O'NEILL et al., 2012). Receptores de fatores de crescimento expressos no embrião em pré-compactação incluem os receptores para IGF.

A receptividade endometrial é crucial para a ancoragem e implantação do blastocisto. Muitas moléculas foram identificadas como sendo importantes para estes processos, como integrinas e seus ligantes, mucinas, fatores de crescimento, citocinas, fatores de transcrição *homeobox*, lipídeos e outras moléculas (STEWART et al., 1992; PARIA et al., 2001; PARIA et al., 2002; AGHAJANOVA et al., 2008; AGHAJANOVA et al., 2009).

O embrião em desenvolvimento deve responder a fatores solúveis de origem maternal para regular proliferação, diferenciação, adesão e invasão. De forma similar, o endométrio receptivo deve ser informado sobre a presença do embrião, modulando respostas imunes locais a fatores embrionários específicos (KAYE, 1997). Um estudo de BROSENS e colaboradores (2014) sugerem que os sinais moleculares embrionários solúveis são usados pelo endométrio como um mecanismo de seleção para promover ou inibir a implantação, dependendo do padrão de expressão de genes maternais induzidos por embriões com diferentes potenciais de desenvolvimento. Foi sugerido que a viabilidade e crescimento de embriões humanos está inversamente correlacionado com o metabolismo de fatores de crescimento e portanto embriões

metabolicamente silenciosos seriam mais viáveis do que embriões metabolicamente ativos (LEESE, 2002).

O trato reprodutor humano produz um número de fatores de crescimento, incluindo EGF, TGF (fator de transformação do crescimento, do inglês, *transforming growth factor*), HB-EGF, IGF1, PDGF-B, LIF e GM-CSF. Ele também expressa vários receptores, incluindo EGFR, VEGFR, LIFR e PAFR (receptor do fator de ativação plaquetária, do inglês, *Platelet-Activating Factor Receptor*). Receptores para os fatores de crescimento das famílias EGF, IGF e PDGF e por uma variedade de citocinas, são expressadas pelo embrião humano através do desenvolvimento. LIF, IGF1, HB-EGF e GM-CSF todos mostraram aumentar a proporção de embriões que se desenvolveram para o estágio de blastocisto (DUNGLISON et al., 1996; LIGHTEN et al., 1998; MARTIN et al., 1998; SJÖBLOM et al., 1999; SPANOS et al., 2000). Além do mais, IGF1 e GM-CSF aumentam o número de células no blastocisto especificamente na ICM (LIGHTEN et al., 1998; SJÖBLOM et al., 1999).

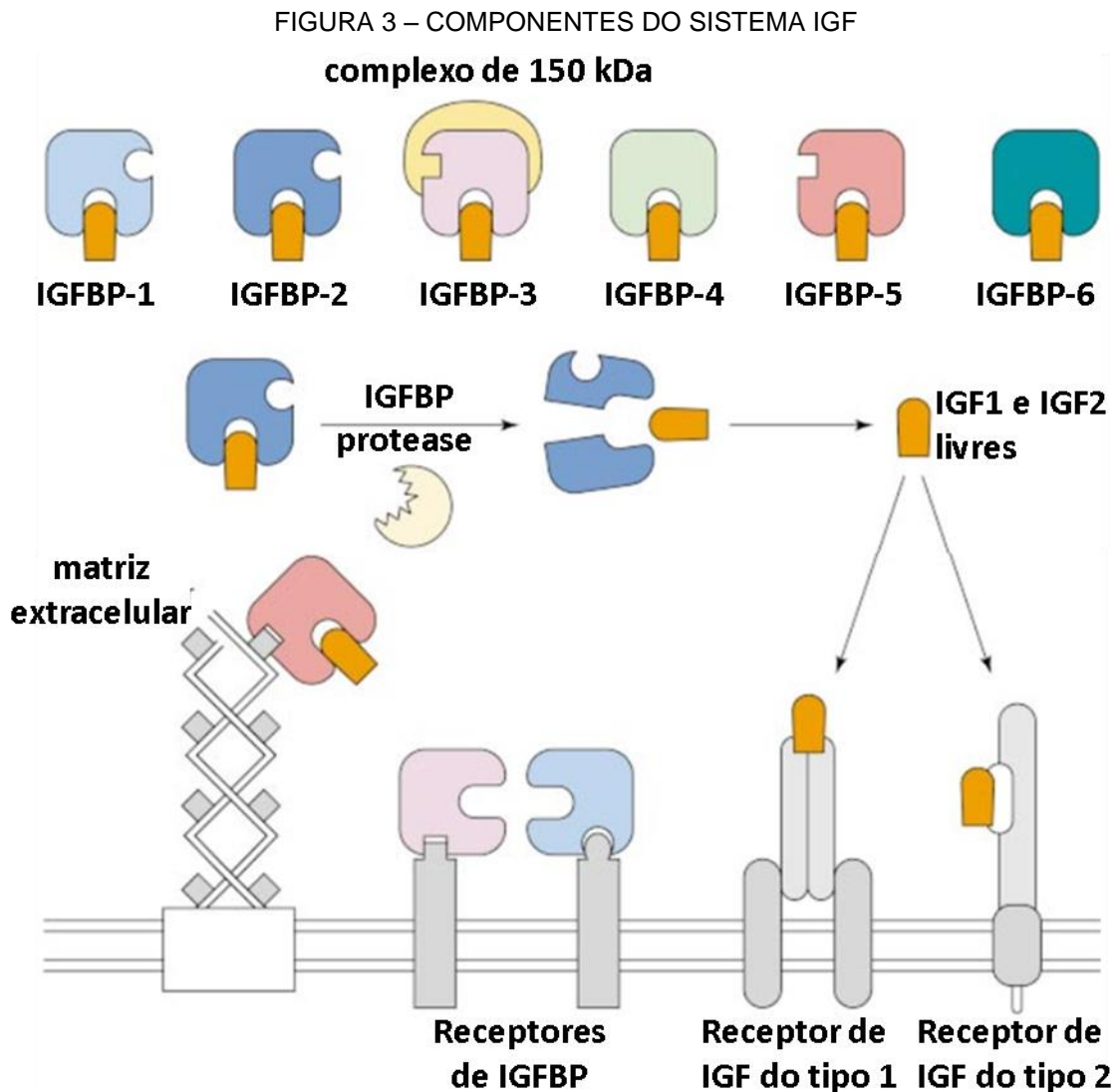
Sugere-se que fatores de crescimento como IGF1, que é produzido pelo embrião e no sítio de implantação, desempenham um papel na coordenação da habilidade de implantação do blastocisto com a receptividade uterina (WANG et al., 2000; ARMANT, 2005). IGF2 também parece ser importante para a implantação, já que a falha na implantação induzida por inibição de VEGF estaria associada a uma *downregulation* de IGF2 em trofoblastos (GHOSH et al., 2011).

Apesar de existir um entendimento básico dos fatores que medeiam os eventos de adesão do blastocisto e invasão, ainda falta ser determinado o completo cenário da sinalização molecular no processo implantacional a medida que mais evidências humanas diretas surgirem (THOUAS et al., 2015).

#### 4.4 SISTEMA IGF

O sistema de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF, do inglês, *insuline-like growth factors*) compreende três peptídeos ligantes (insulina, IGF1 e IGF2), três receptores de membrana tirosina-quinase (IR, do inglês, *insulin receptor*; IGF1R, do inglês, *IGF type 1 receptor*; e IGF2R, do inglês, *IGF type 2 receptor*), uma família de 6 proteínas ligantes de IGF (IGFBP-1 a IGFBP-6, do inglês, *IGF binding protein 1-6*) e proteases de IGFBP (LIGHTEN et al., 1997a; ALLAN et al., 2001; DE MEYTS, 2004; BELFIORE et al., 2009; FENG & LEVINE, 2010; WEROHA &

HALUSKA, 2012; BRUCHIM & WERNER, 2013; VLISMAS et al., 2016; WHITE et al., 2018). Os componentes do sistema IGF estão esquematizados na FIGURA 3.



FONTE: adaptado de ALLAN et al. (2001).

O sistema IGF desempenha papéis extensos tanto na biologia de células normais quanto na de células tumorais (WEROHA & HALUSKA, 2012). As ações biológicas do eixo IGF ocorrem tanto durante o crescimento fetal como na vida pós-natal, são bem definidas e incluem efeitos profundos de proliferação, diferenciação e migração na maioria dos tipos celulares, assim como sinais de sobrevivência celular (RECHLER & NISSLEY, 1985; LAMMERS et al., 1989; ROTWEIN, 1991; HWA et al., 1999; ALLAN et al., 2001; NAKAE et al., 2001; LIN et al., 2003; POLLAK, 2008; ANNUNZIATA et al., 2010). Em adição aos efeitos endócrinos exercidos pelas IGF

circulantes, IGF produzidas localmente exercem efeitos parácrinos e autócrinos de proliferação celular (JONES & CLEMMONS, 1995).

Nos fluidos biológicos, a maioria dos IGF estão ligadas a IGFBP, proteínas de aproximadamente 60 kDa responsáveis por proteger IGF da degradação, regular a meia-vida e entregá-los ao seu sítio-alvo, atuando como moduladores das atividades biológicas tanto de IGF1 quanto de IGF2 (JONES & CLEMMONS, 1995; CLEMMONS, 1997; ALLAN et al., 2001; DENLEY et al., 2005; WEROHA & HALUSKA, 2012; BACH, 2015; WHITE et al., 2018). IGFBP3 se liga tanto a IGF1 quanto a IGF2, formando um complexo ternário de 150 kDa com a subunidade ácido-lábil (ALS, do inglês, *acid-labile subunit*). Esta é a principal forma de IGFBP no plasma humano e representa o principal regulador da meia vida de IGF na circulação. Quando esse complexo se dissocia, IGF forma complexos binários menores com as outras IGFBP, que transportam o IGF através do endotélio para seus tecidos alvo (LE ROITH et al., 2001; AMUTHA & RAJKUMAR, 2017).

As IGFBP tem uma maior afinidade pelo IGF do que os receptores IGFR (JONES & CLEMMONS, 1995). Entretanto, em algumas circunstâncias, particularmente na gravidez, as modificações pós-traducionais de IGFBP estão alteradas de forma que a afinidade de IGFBP por IGF está reduzida e portanto a biodisponibilidade de IGF está aumentada (FORBES & WESTWOOD, 2008).

As ações das proteínas IGF são mediadas principalmente pela ligação de alta afinidade ao receptor IGF1R, uma proteína de membrana no tipo tirosina-kinase muito semelhante ao receptor IR tanto na sequência de aminoácidos como na estrutura tridimensional. IGF2 e em uma menor proporção IGF1 também podem se ligar ao receptor IR, assim como ao receptor IGF2R. Este último receptor não possui o domínio intracelular de tirosina-kinase e atua regulando a biodisponibilidade de IGF ao internalizá-lo e sinalizar para a degradação lisossomal (ULLRICH et al., 1986; NISSLEY & LOPACZYNSKI, 1991; LOUVI et al., 1997; BRAULKE, 1999; ALLAN et al., 2001; LE ROITH et al., 2001; NAKAE et al., 2001; ABUZZAHAB et al., 2003; GHOSH et al., 2003; CHENG et al., 2005; WALENKAMP et al., 2006; BROWN et al., 2009; BELFIORE & MALAGUARNERA, 2011; HARRIS et al., 2011; SMERIERI et al., 2011; BASERGA, 2013; KAVRAN et al., 2014; BROUWER-VISSER & HUANG, 2015; SCOTT & KIESS, 2015).

IGF1R, IR-A e IR-B podem ainda formar receptores híbridos quando são co-expressos nas células. IGF1 e IGF2 se ligam a estes receptores híbridos com alta

afinidade, enquanto a insulina se liga com menos afinidade (SOOS et al., 1990; SALAMONSEN et al., 2001; CHENG et al., 2005).

## 4.5 PROTEÍNA IGF1R

### 4.5.1 Estrutura da proteína IGF1R

O receptor de IGF do tipo 1 (IGF1R) é uma glicoproteína de membrana membro da família das proteínas transmembrana com atividade de tirosina-kinase, onde também está inserido o receptor de insulina (IR) (BASERGA, 1995; LEROITH et al., 1995). Tanto IGF1R quanto IR são proteínas heretotetraméricas (SIEBLER et al., 1995), sintetizadas como um precursor de cadeia única (WALENKAMP et al., 2006). Ambos apresentam subunidade  $\alpha$ , envolvida principalmente na ligação ao ligante, e subunidade  $\beta$ , que contém o domínio catalítico de tirosina-kinase (ABUZZAHAB et al., 2003; WALENKAMP et al., 2006).

Ligação do substrato ao receptor de tirosina-kinase resulta em autofosforilação nos resíduos intracelulares de tirosina e ativação da tirosina-kinase, iniciando diferentes cascatas de sinalização intracelular (JACOBS et al., 1983; RUBIN et al., 1983; LEROITH et al., 1995; HOLMES et al., 1999). Ao contrário da maioria dos receptores de superfície celular, que dimerizam após ligação do ligante, os membros da família de receptores IGF já pré-existem como dímeros ligados por pontes dissulfeto, que, após a interação com o ligante, passam por um rearranjo em seus domínios (GARRETT et al., 1998; HOLMES et al., 1999; ADAMS et al., 2000).

IGF1R é sintetizado como um precursor de 180 kDa (JACOBS et al., 1983), que é posteriormente glicosilado, dimerizado e processado proteoliticamente para formar o receptor maduro. O precursor da proteína IGF1R apresenta 1367 aminoácidos, incluindo um peptídeo sinal de 30 aminoácidos (resíduos -30 a -1). Há um sítio de clivagem nos resíduos 708-711, que resulta na produção de uma cadeia  $\alpha$  (resíduos 1-707) e uma cadeia  $\beta$  (resíduos 712 a 1337). A cadeia  $\alpha$  e 195 resíduos da cadeia  $\beta$  formam o domínio extracelular da proteína (ULLRICH et al., 1986). Em IGF1R há apenas uma sequência transmembrana (resíduos 906 a 929) e o resíduo citoplasmático que contém o domínio tirosina-kinase apresenta 408 resíduos (ADAMS et al., 2000). A sequência de aminoácidos do precursor da proteína IGF1R está representada na FIGURA 4.

A metade N-terminal do ectodomínio de IGF1R contém dois domínios homólogos (L1 e L2, domínios grandes 1 e 2, do inglês, *large domains 1 and 2*) separados por uma região rica em cisteína (do inglês, *cys-rich region*) de 41 resíduos (Cys152-Cys298) (BAJAJ et al., 1987; WARD et al., 1995). A metade C-terminal do ectodomínio de IGF1R consiste em 3 domínios de fibronectina do tipo III (FnIII, do inglês, *fibronectin type III domain*), sendo que o segundo contém um grande domínio de inserção (do inglês, *insert domain*) de 120-130 resíduos. Intracelularmente, cada monômero de IGF1R contém um domínio tirosina-kinase (aminoácidos 973-1229) flanqueado por duas regiões regulatórias – a região justamembrana (aminoácidos 930 a 972) e uma cauda C-terminal de 108 aminoácidos (resíduos 1230 a 1337) que contém a região de ligação a fosfotirosinas ou moléculas de sinalização (ADAMS et al., 2000). A cadeia  $\alpha$  de IGF1R apresenta um total de 38 resíduos de cisteína enquanto a cadeia  $\beta$  apresenta 3 resíduos de cisteína extracelulares e 5 resíduos intracelulares (ADAMS et al., 2000). A representação esquemática da estrutura de IGF1R está na FIGURA 5.

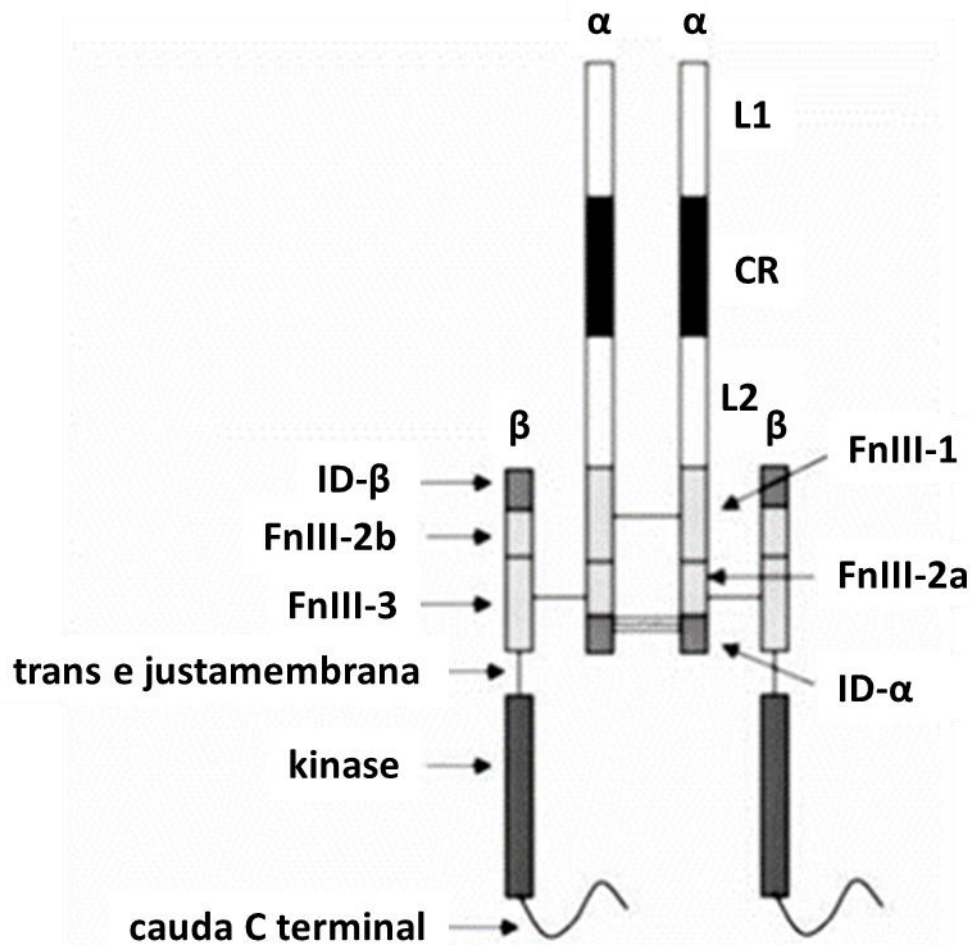


NOTA:  $\alpha$ -hélices estão representadas por cilindros e folhas- $\beta$  estão representadas por setas. A demarcação dos limites entre os diferentes domínios da proteína IGF1R estão demarcados abaixo da sequência de aminoácidos. **L1** – domínio grande 1, do inglês, *large domain 1*; **Cys-rich** – domínio rico em cisteína, do inglês, *cystein-rich region*; **L2** - domínio grande 2, do inglês, *large domain 2*; **FnIII-1** – domínio 1 de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 1*; **FnIII-2a** – domínio 2a de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 2a*; **Insert** – domínio de inserção, do inglês, *insert domain*; **FnIII-2b** – domínio 2b de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 2b*; **FnIII-3** – domínio 3 de fibronectina tipo III, do inglês, *fibronectin type III domain 3*; **TM** – região transmembrana, do inglês, *transmembrane region*; **JM** – região justamembrana, do inglês, *justamembrane region*; **Kinase** – domínio de tirosina-quinase; **C-tail** – cauda carboxi terminal, do inglês, *carboxi-terminal tail*;

FONTE: adaptado de EBINA et al. (1985); ULLRICH et al. (1985); ULLRICH et al. (1986); HUBBARD et al. (1994); GARRETT et al. (1998).



FIGURA 5 – DESENHO ESQUEMÁTICO DA ESTRUTURA DA PROTEÍNA IGF1R



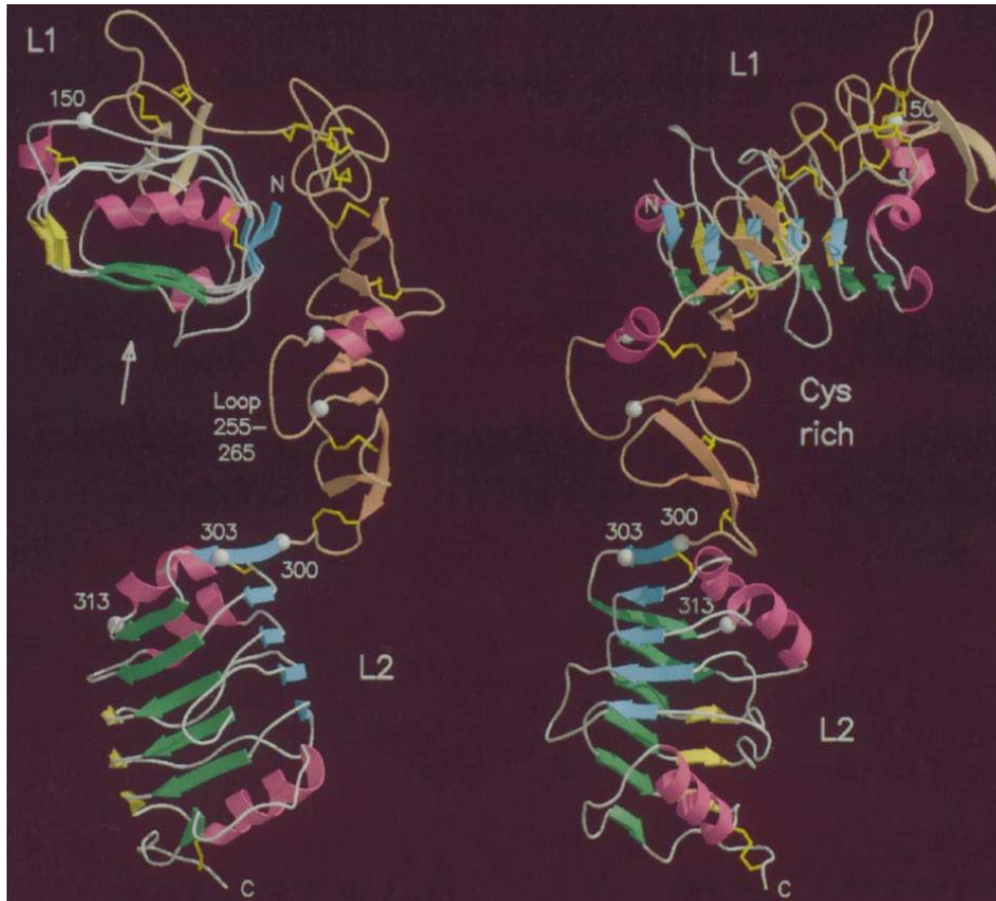
NOTA: barras horizontais indicam a posição aproximada das pontes dissulfeto entre as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  e entre ambas as cadeias  $\alpha$ .

FONTE: adaptado de SPARROW et al. (1997).

GARRET e colaboradores (1998), determinaram a estrutura tridimensional dos domínios L1/cys-rich/L2 do receptor IGF1R (FIGURA 6). A molécula adota um formato bilobal (com aproximadamente  $40 \times 48 \times 105 \text{ \AA}$ ) com os domínios L em cada uma das pontas. A região rica em cisteína representa  $2/3$  do comprimento da molécula fazendo contato com o domínio L1 porém pouco contato é feito com o domínio L2. Esta configuração deixa um espaço no centro da molécula com aproximadamente  $24 \text{ \AA}$  de diâmetro, espaço suficiente para acomodar tanto IGF1 quanto IGF2. Cada domínio L (aminoácidos 1 a 150 e 300 a 460) adota um formato de hélice  $\beta$  dextrógira de fita simples finalizada em cada ponta por pequenas hélices  $\alpha$  e ligações dissulfeto. Apesar do polipeptídeo representar apenas a primeira metade do ectodomínio de IGF1R, contém a maioria dos determinantes de especificidade de ligação.

Adams e colaboradores (2000) concluíram que os resíduos 131 a 135 de IGF1R são essenciais para a ligação com IGF1.

FIGURA 6 – ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL PROPOSTA OS RESÍDUOS 1-459 DA PROTEÍNA IGF1R HUMANA



NOTA:  $\alpha$ -hélices estão representadas como fitas enroladas e folhas- $\beta$  estão representadas como setas largas.

FONTE: adaptado de GARRETT et al. (1998).

#### 4.5.2 Funções da proteína IGF1R

IGF1 se liga a IGF1R com alta afinidade e inicia suas respostas fisiológicas ao ligante *in vivo* (LEROITH et al., 1995). IGF2 também se liga a IGF1R, apesar de com uma menor afinidade (BAKER et al., 1993). IGF1R atua como mediador crítico na proliferação, sobrevivência celular, mitogênese, transformação celular, diferenciação celular e sinais antiapoptose (PANDEY et al., 2009; ALENCAR & LOPES, 2010). As respostas celulares mediadas por IGF1R se dão tanto de maneira parácrina quanto de maneira autócrina (ALLAN et al., 2001; NAKAE et al., 2001).

A ativação de IGF1R promove sobrevivência celular em resposta a uma gama de estímulos apoptóticos, como hipóxia, depleção de fatores de crescimento,

superexpressão de c-myc, TNF- $\alpha$ , agentes quimioterápicos e irradiação UVB (GLUCKMAN et al., 1992; RODRIGUEZ-TARDUCHY et al., 1992; HARRINGTON et al., 1994; SELL et al., 1995; WU et al., 1996; KULIK et al., 1997).

IGF1R é uma glicoproteína de membrana que media a maioria das ações biológicas dos fatores de crescimento IGF1 e IGF2, tendo um efeito importante no desenvolvimento do folículo ovariano, na ovulação, no desenvolvimento embrionário pré-implantacional, na concepção e no crescimento (HOLMES et al., 1999; SHEN et al., 2003; ECHTERNKAMP et al., 2004; PATTON et al., 2007; KANG et al., 2015b).

Estudos *in vitro* com células derivadas de mutantes nulos para IGF2 e IGF1R demonstraram um aumento no número de células apoptóticas, enquanto animais transgênicos para IGF1, IGF2 e IGF1R demonstraram um número reduzido de células apoptóticas (NEUENSCHWANDER et al., 1996; STELLER et al., 1996; LERI et al., 1999; PETRIK et al., 1999).

Estudos em camundongos tem suportado o papel da família IGF no crescimento: inativação (do inglês, *knockout*) de IGF1, IGF2 ou IGF1R resultam em retardo do crescimento, además de estarem associadas a letalidade neonatal (BAKER et al., 1993; LIU et al., 1993; ACCILI et al., 1996; EFSTRATIADIS, 1996; FOWDEN, 2003). Em humanos, mutações em IGF1 e IGF1R foram relacionadas com retardo do crescimento intra-uterino e pós-natal (ABUZZAHAB et al., 2003; BONAPACE et al., 2003; NETCHINE et al., 2009; NETCHINE et al., 2011; WIT & WALENKAMP, 2013) (WOODS et al., 2000). Estudos de LIU e colaboradores (1993) e D'ERCOLE e colaboradores (1996) mostraram que apesar do crescimento embrionário ser afetado, o crescimento placentário não seria afetado pela ausência tanto de IGF1 quanto de IGF1R. Entretanto, estudos mais recentes por LAVIOLA e colaboradores (2005) indicaram um decréscimo na expressão de IGF1R e de proteínas de transdução de sinal em placentas com restrição do crescimento embrionário intra-uterino.

Em todos estes estudos, foi encontrado que IGF diminui a incidência de apoptose e aumenta as taxas de formação de blastocisto durante o período pré-implantacional. Foi reportado que o efeito de supressão da morte celular de IGF é mediado através de suas ações nos receptores IGF (KLEFFENS et al., 1999). Assim sendo, bloqueio seletivo de IGF1R em camundongos por um antagonista sintético de IGF1R, picropodofilina, exibiu apoptose extensiva e degeneração dos embriões em cultura porque a apoptose está agindo em condições em que não há oposição por IGF (INZUNZA et al., 2010).

Camundongos nulos para IGF1R apresentam um fenótipo muito mais severo que animais com redução da expressão (do inglês, *knockdown*) IGF1 ou IGF2 já que o peso ao nascer é 60% menor quando comparado a ninhadas normais (EFSTRATIADIS, 1998).

Na placenta, IGF1R é expresso em todos os tipos celulares, incluindo trofoblasto, endotélio viloso e núcleo mesenquimal (FANG et al., 1997; HOLMES et al., 1999). Estudos com camundongos transgênicos faltando IGF1R sugerem que a redução no número de IGF1R placentário pode ser um fator que contribua para a promoção de complicações gestacionais devido à restrição do crescimento intra-uterino (IUGR, do inglês, *intra-uterine growth restriction*). Um estudo imunohistoquímico de placentas de gestações normais e IUGR mostrou não haver diferença entre a localização e distribuição do receptor (HOLMES et al., 1999), apesar de um estudo mais recente ter demonstrado uma significativa redução no níveis da proteína IGF1R (LAVIOLA et al., 2005). Interessantemente, a redução do conteúdo da proteína IGF1R em IUGR placentas foi associado com a interferência na ativação das moléculas de sinalização intracelular (FORBES & WESTWOOD, 2008). Portanto, os problemas associados com IUGR podem ser causados por problemas nos eventos de sinalização *downstream* de IGF1R (FORBES & WESTWOOD, 2008).

FORBES e colaboradores (2008) demonstraram que a habilidade de IGF de influenciar o *turnover* do trofoblasto envolve ativação de vias de sinalização intracelular mediadas por IGF1R. Estes receptores estão presentes tanto nas membranas das microvilosidades sinciciais na face materna como no citotrofoblasto (REBOURCET et al., 1998; HOLMES et al., 1999). O IGF1R é mais abundante na membrana das microvilosidades do que na face fetal da membrana basal, sugerindo que IGF da circulação materna pode atuar nos receptores da superfície sincicial para influenciar na proliferação do citotrofoblasto (FORBES et al., 2008).

Evidências *in vitro* suportam o papel de IGF1 atuando através de IGF1R no crescimento, desenvolvimento e função da placenta humana. IGF1 atua em IGF1R para influenciar tanto proliferação do trofoblasto como sua diferenciação para produzir hCG e hPL na segunda metade do primeiro trimestre (MARUO et al., 1995).

#### 4.6 SINALIZAÇÃO INTRACELULAR DE IGF1R

IGF1 e IGF2 induzem seus efeitos através de IGF1R (LEROITH & ROBERTS JR, 2003). IGF se liga a subunidade extracelular de IGF1R, provoca uma mudança conformacional na estrutura do receptor e induz a autofosforilação da tirosina kinase intracelular na subunidade  $\beta$  do receptor, resultado na ativação das vias de sinalização intracelular MAPK (proteína kinase ativada por mitogênio, do inglês, *mitogen activated protein kinase*) e PI3K/AKT (fosfatidil-inositol-3-kinase/proteína kinase B, do inglês, *phosphatidyl inositol-3-kinase/protein kinase B*) (OKA et al., 1985; MYERS JR et al., 1993; JONES & CLEMMONS, 1995; BASERGA et al., 1997; DUPONT & LEROITH, 2001; VINCENT & FELDMAN, 2002; LEROITH & ROBERTS JR, 2003; WALENKAMP et al., 2006; FORBES et al., 2008; CHAVES & SAIF, 2011; HUBBARD, 2011). A FIGURA 7 resume as vias de sinalização intracelular MAPK e PI3K/AKT, ativadas por IGF1R.

Essas duas principais cascatas de sinalização intracelular controlam diversos processos biológicos, incluindo transcrição e tradução, modulação da diferenciação tecidual, inibição da apoptose, proliferação, crescimento e sobrevivência celular (LEROITH et al., 1995; BASERGA, 1999; VINCENT & FELDMAN, 2002; FOULSTONE et al., 2005).

Diversos tipos celulares, incluindo linhagens hematopoiéticas, neurais, de fibroblastos, de células musculares lisas e células germinativas são protegidas do estímulo apoptótico utilizando como rota dominante a ativação da rota PI3K (MINSHALL et al., 1996; DUDEK, 1997; KULIK et al., 1997; BAI et al., 1999; MORITA et al., 1999).

A autofosforilação do domínio intracelular de tirosina-kinase de IGF1R subsequentemente ativa, por fosforilação, elementos de resposta a insulina (IRS1 e IRS2, do inglês, *insulin receptor substrate*). A fosforilação de IRS1 e IRS2 ativa proteínas adaptadoras SHC, que por sua vez ativam PI3K, proteína que converte fosfatidilinositol-3,4-fosfato em fosfatidilinositol-3,4,5-fosfato. Este mensageiro secundário ativa a fosforilação da proteína Akt, que culmina com a inibição do complexo da rapamicina, regulando a proliferação celular (KENNEDY et al., 1997; ADAMS et al., 2000; FAYARD, 2005; ENGELMAN et al., 2006; MANNING & CANTLEY, 2007; FORBES & WESTWOOD, 2008; GONZALEZ & MCGRAW, 2009). Esta rede de sinalização inibe a apoptose ao fosforilar a proteína pró-apoptótica BAD

(agonista de morte celular associado a BCL2 do inglês, *BCL2-associated death promoter*) e FKHR (PERUZZI et al., 1999).

IRS1 desempenha um papel dominante na mediação dos sinais mitogênicos por IGF1R *in vivo*. Contudo, existem vias alternativas para evitar a letalidade pós-natal em camundongos em que IRS1 esteja inativo, como ocorre em camundongos em que IGF1R esteja inativo (LIGHTEN et al., 1997a).

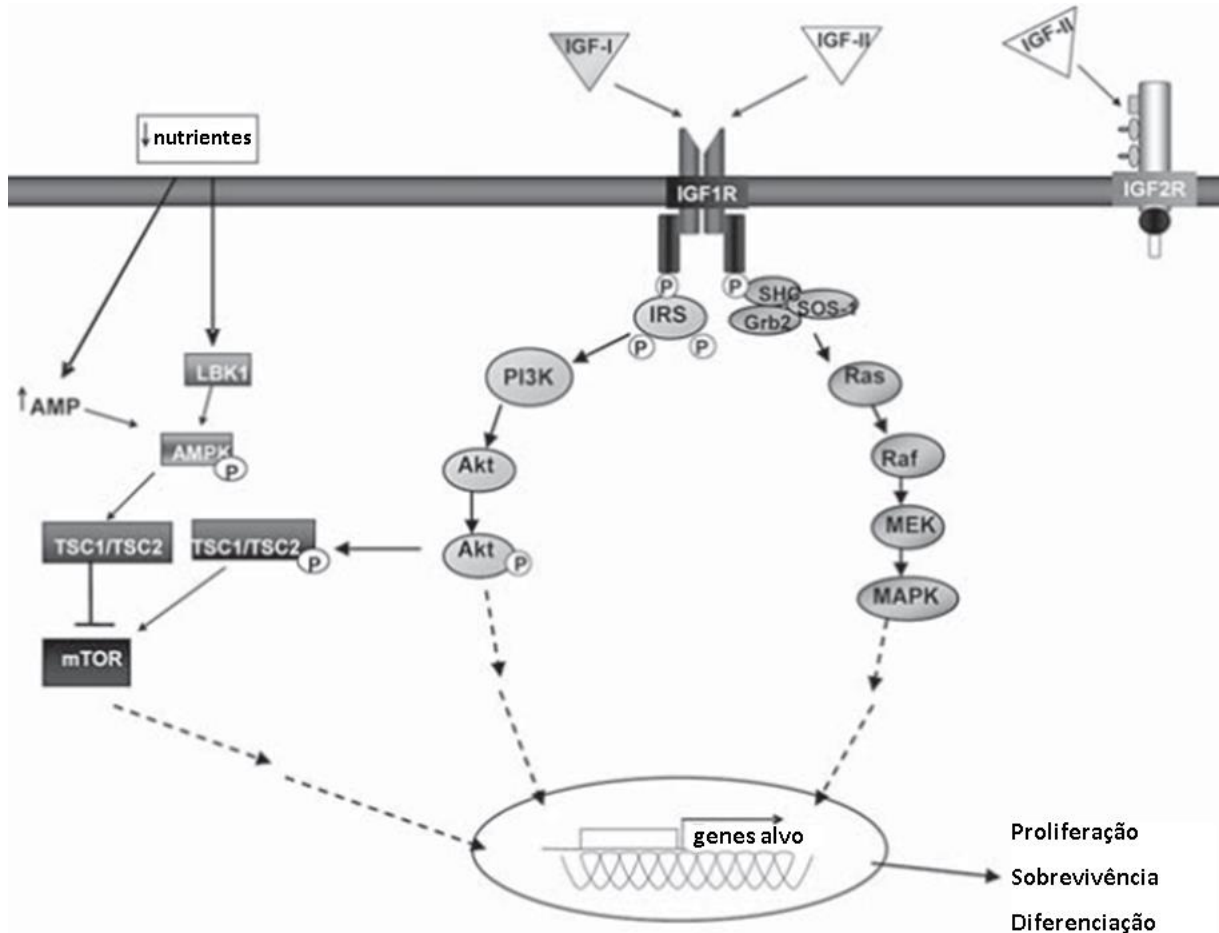
A sinalização intracelular de IGF1R também pode ativar as proteínas adaptadoras SHC e GRB2 (proteína 2 ligada ao receptor do fator de crescimento do inglês, Growth factor Receptor-Bound protein 2) que, por sua vez, facilitam a ativação da proteína Ras. A proteína Ras inicia uma cascata de fosforilação através das kinases intermediárias c-Raf e MEK (proteína kinase kinase ativada por mitogênio, do inglês, *mitogen-activated protein kinase kinase*), que por sua vez ativam as proteínas MAPK e kinases relacionada a sinal extracelular (ERK1 e ERK2, do inglês, *extracellular signal-related kinase*), resultando em proliferação celular (PERUZZI et al., 1999; ADAMS et al., 2000; POUYSSÉGUR et al., 2002). A via MAPK além de ativar a proliferação e a sobrevivência celular também inibi a apoptose ao fosforilar ASK1 (kinase reguladora de sinal de apoptose-1, do inglês, *apoptoses signal-regulating kinase-1*), que é uma MAPKKK (MAPK kinase kinase) (GALVAN et al., 2003; AMUTHA & RAJKUMAR, 2017).

Na maioria das células, a ativação induzida por fatores de crescimento de ambas as vias PI3K/AKT e MAPK é regulada pela proteína tirosina fosfatase SHP-2 (QU, 2002). Camundongos apresentam anormalidades severas no desenvolvimento e morrem, conseqüentemente, no meio da gestação quando a proteína SHP-2 não está funcional. YANG e colaboradores (2006) determinaram que a proteína SHP-2 funcional é necessária para a sobrevivência das células-tronco de trofoblasto murinas, sugerindo que esta proteína deve regular o desenvolvimento fetal ao atuar no desenvolvimento placentário. MAILE & CLEMMONS (2002) determinaram que SHP-2 regula positivamente a sinalização de IGF ao interagir com IRS-1 e regular a desfosforilação de IGF1R em células musculares lisas vasculares, sugerindo que a proteína SHP-2 é importante na regulação dos eventos de sinalização induzidos por IGF na placenta humana.

Em células musculares lisas vasculares, SHP-2 regula positivamente a sinalização de IGF ao interagir com IRS-1 e regular a desfosforilação de IGF1R (MAILE & CLEMMONS, 2002) e portanto pode ser importante também considerar o

papel de SHP-2 na regulação de eventos de sinalização induzida por IGF na placenta humana.

FIGURA 7 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DOS SINAIS INTRACELULARES MEDIADOS POR IGF1R



NOTA: IGF1 e em menor extensão IGF2 se ligam a IGF1R, induzindo a autofosforilação do receptor, levando a ativação das vias PI3K/AKT e MAPK através de seqüências de eventos de fosforilação e culminando, por fim, na transcrição de genes alvo envolvidos na promoção da proliferação, sobrevivência, diferenciação e proteção contra apoptose.

FONTE: adaptado de FORBES & WESTWOOD (2008).

A abolição de MAPK demonstra que esta molécula de sinalização intracelular é essencial para o desenvolvimento normal da placenta em ratos (HATANO et al., 2003). Na placenta humana, MAPK ERK1/2 são expressas nas vilosidades do trofoblasto (KITA et al., 2003) e mostraram regular a diferenciação de citotrofoblastos primários isolados em sincício (DAOUD et al., 2005). Dados demonstram que a ativação da via de MAPK por receptores tirosina kinase, como IGF1R, induzem a invasão e migração na placenta (QIAN et al., 2004).

PAN e colaboradores (2012) descrevem outros dois alvos intracelulares alternativos para a via de sinalização por IGF1R: PAPP (Proteína plasmática A

associada à gravidez, do inglês, *pregnancy-associated plasma protein A*) e AURKA (Aurora Kinase A). PAPP-A é uma protease que cliva IGFBP e aumenta os níveis de IGF livres.

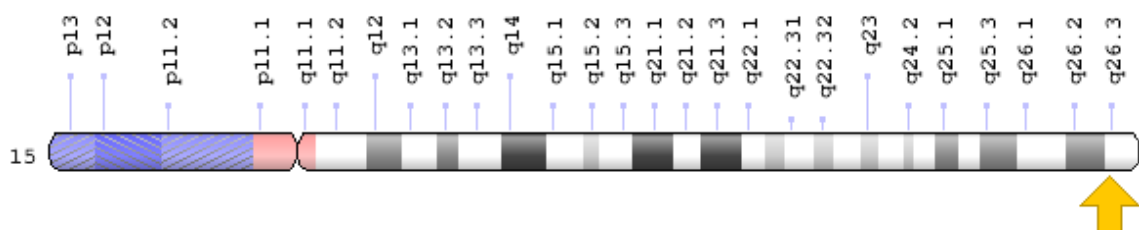
A recente identificação por SOLOMON-ZEMLER e colaboradores (2017) da translocação nuclear do receptor IGF1R em diferentes tipos celulares sugere um nível adicional de regulação de processos biológicos. Dados publicados por SARFSTEIN e colaboradores (2012) evidenciaram que IGF1R nuclear possui a função de fator de ativação transcricional. Além disso, os autores também mostraram que IGF1R se liga ao DNA de maneira sequência-específica e, dentre outros genes alvos, autorregula seu promotor cognato a nível transcricional. Nesse contexto, o IGF1R nuclear parece cumprir uma função fisiológica e não patológica, no contexto da sinalização de IGF (SARFSTEIN et al., 2012).

## 4.7 GENE *IGF1R*

### 4.7.1 Estrutura do gene *IGF1R*

A proteína IGF1R é codificada pelo gene de mesmo nome, *IGF1R*, que está localizado na sub-banda 3 da banda 6 da região 2 do braço longo do cromossomo 15 (15q 26.3) (coordenadas – GRCh38: 15:98,648,538-98,964,529 (FIGURA 8) (OMIM, 2018).

FIGURA 8 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA LOCALIZAÇÃO CITOGENÉTICA DO GENE *IGF1R*



FONTE: GHR (2018).

*IGF1R* possui mais de 300 kb, distribuídos em 21 éxons, dos quais os 10 primeiros codificam para a cadeia  $\alpha$  e os 11 últimos codificam para a cadeia  $\beta$  da respectiva proteína (ABBOTT et al., 1992; ZERBINO et al., 2017). A correlação entre



os éxons do gene *IGF1R* e a região da proteína que cada um deles codifica está esquematizado na FIGURA 9.

FIGURA 9 – CORRELAÇÃO ENTRE OS ÉXONS DO GENE *IGF1R* E OS DOMÍNIOS PRESENTES NA PROTEÍNA IGF1R



FONTE: adaptado de GROWTHGENETICS (2018).

Presentes em 97 espécies diferentes, incluindo invertebrados, foram descritos até o momento 110 ortólogos para o gene *IGF1R* (ZERBINO et al., 2017). Representantes da família de receptores IGF1R/IR foram caracterizados em alguns dos animais multicelulares mais simples, como cnidários, nemátodos, gastrópodes e insetos (FERNANDEZ et al., 1995; ROOVERS et al., 1995; RUAN et al., 1995; STEELE et al., 1996; GRAF et al., 1997; KIMURA et al., 1997). O surgimento de um receptor IGF1R distinto de IR coincide com a transição evolucionária dos protocordados para os vertebrados (PASHMFOROUSH et al., 1996).

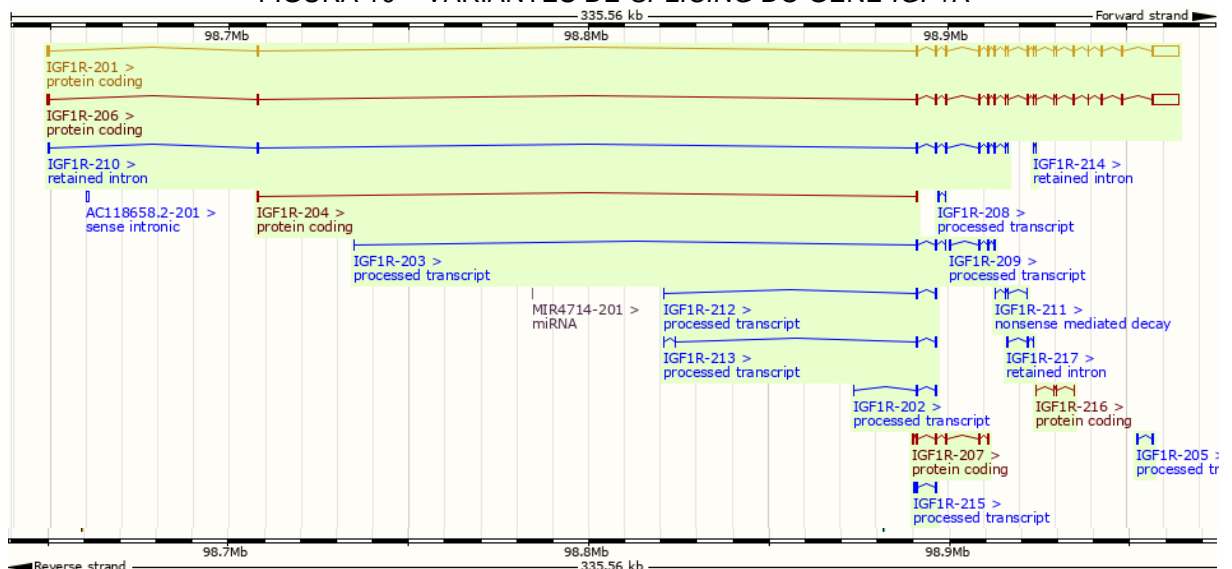
O gene *IGF1R* possui 17 variantes de *splicing* (destacados na TABELA 1 e esquematizados na FIGURA 10), das quais 11 não chegam a ser transcritas, 2 traduzem uma proteína de 1367/1366 aminoácidos e 4 traduzem para um peptídeo de menos de 250 aminoácidos (ZERBINO et al., 2017).

TABELA 1 – TRANSCRITOS DO GENE *IGF1R*.

Nome	ID transcrito	Comprimento do transcrito (pb)	Comprimento da proteína (aa)	Tipo
IGF-1R-201	ENST00000268035.10	11803	1367	Codificador de proteína
IGF-1R-206	ENST00000558762.5	11726	1366	Codificador de proteína
IGF-1R-207	ENST00000558898.1	1034	212	Codificador de proteína
IGF-1R-204	ENST00000558355.1	572	190	Codificador de proteína
IGF-1R-216	ENST00000560972.1	310	103	Codificador de proteína
IGF-1R-211	ENST00000560144.1	525	90	Sem sentido
IGF-1R-215	ENST00000560432.1	657	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-202	ENST00000557873.5	583	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-203	ENST00000557938.5	574	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-209	ENST00000559582.1	567	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-212	ENST00000560186.5	551	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-205	ENST00000558751.1	548	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-213	ENST00000560277.5	526	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-208	ENST00000558947.1	303	Sem produto proteico	Transcrito processado
IGF-1R-210	ENST00000559925.5	2280	Sem produto proteico	Com íntron retido
IGF-1R-217	ENST00000561049.1	682	Sem produto proteico	Com íntron retido
IGF-1R-214	ENST00000560343.1	343	Sem produto proteico	Com íntron retido

NOTA: pb – pares de base; aa – aminoácidos.

FONTE: adaptado de Ensembl (ZERBINO et al., 2017).

FIGURA 10 – VARIANTES DE *SPLICING* DO GENE *IGF1R*

NOTA 1: Blocos preenchidos – éxons; blocos não-preenchidos – regiões não traduzidas; linhas entre blocos – íntrons.

NOTA 2: Transcritos em vermelho são codificados em proteína; transcritos em laranja foram analisados pelos navegadores genômicos Ensembl e Havana; transcritos em azul são transcritos processados.

FONTE: Ensembl (ZERBINO et al., 2017).

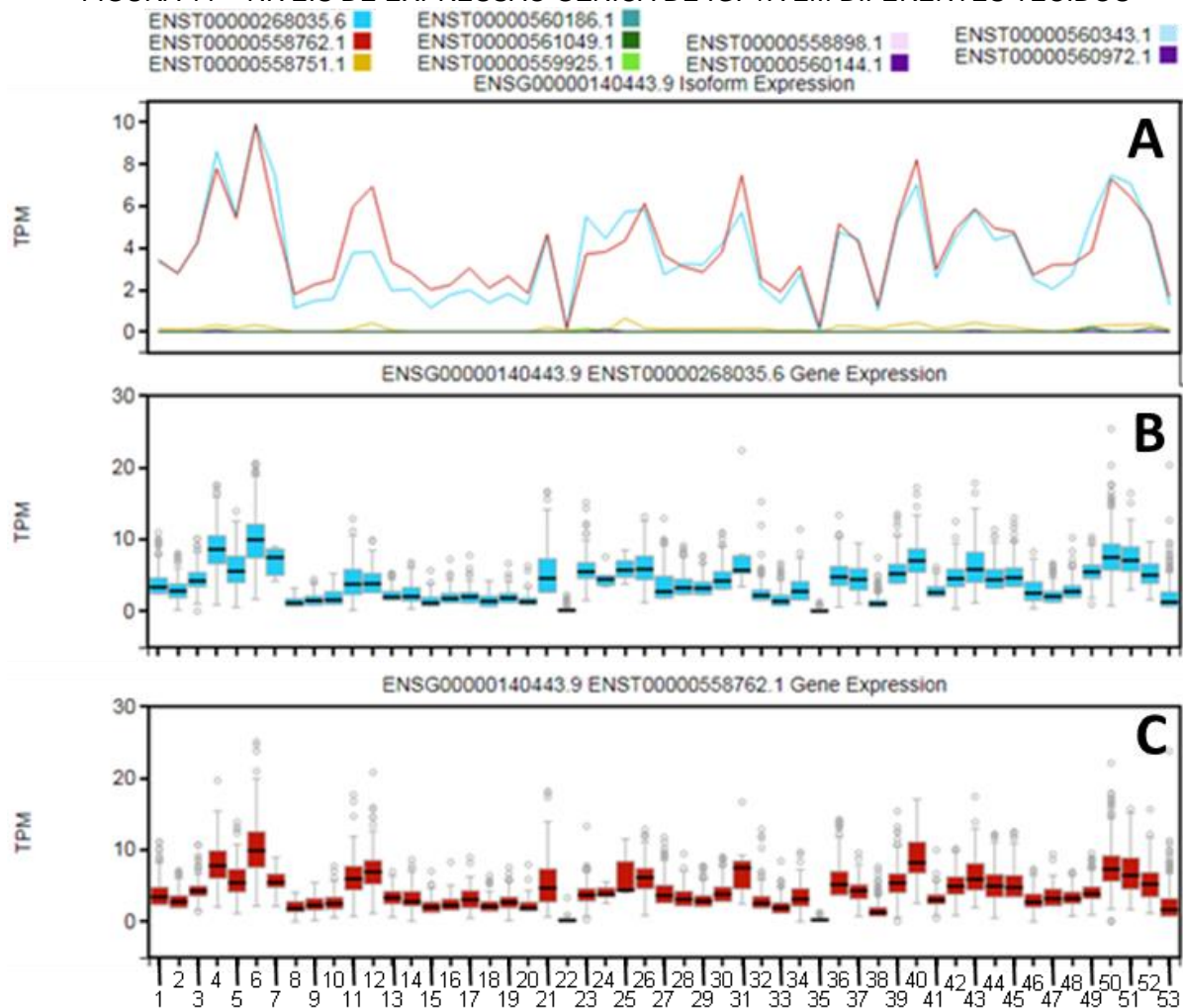
O gene *IGF1R* é homólogo ao gene *IR* em termos de organização de íntrons e éxons (homologia da sequência varia de 41 a 84% dependendo do domínio (ADAMS et al., 2000) e também na sequência de aminoácidos (mais de 50% de identidade) (ABBOTT et al., 1992). Ambos genes codificam para uma proteína precursora que, após passar por modificações pós-traducionais, produz a proteína madura formada por duas subunidades  $\alpha$  e duas subunidades  $\beta$ . As subunidades  $\alpha$  são extracelulares, contendo o domínio de ligação ao ligante, enquanto as subunidades  $\beta$  contém os domínios catalíticos intracelulares de tirosina-kinase (LEROITH et al., 1995).

Em 1986, pela primeira vez, ULLRICH e colaboradores clonaram e sequenciaram o DNA complementar (cDNA) para o gene *IGF1R* humano, que consistiu em 4989 nucleotídeos, que codificam para uma proteína precursora de 1367 aminoácidos (ULLRICH et al., 1986).

#### 4.7.2 Expressão do gene *IGF1R*

O gene *IGF1R*, assim como seu ligante *IGF1* e diferentemente dos genes *IGF2* e *IGF2R*, da mesma família, não é imprintado (DEMETRIOU et al., 2014).

A FIGURA 11 ilustra os níveis de expressão gênica de *IGF1R* nos diversos tecidos humanos, dando destaque para os transcritos IGF1R-201 e IGF1R-206, considerados os mais representativos.

FIGURA 11 – NÍVEIS DE EXPRESSÃO GÊNICA DE *IGF1R* EM DIFERENTES TECIDOS

NOTA 1: **A:** Valores relativos dos níveis teciduais de expressão dos diferentes transcritos de *IGF1R*, com destaque para ENST00000268035 (*IGF1R*-201, em azul) e ENST00000558762 (*IGF1R*-206, em vermelho), em escala linear. **B:** Os box plots representam a expressão gênica do transcrito *IGF1R*-201 nos diferentes tecidos, com mediana e percentis a 25% e 75%. **C:** Os box plots representam a expressão gênica do transcrito *IGF1R*-206 nos diferentes tecidos, com mediana e percentis a 25% e 75%.

NOTA 2: **1** - Tecido adiposo – subcutâneo; **2** - Tecido adiposo – visceral (omento); **3** - Glândula adrenal; **4** - Artéria aorta; **5** - Artéria coronária; **6** - Artéria tibial; **7** – Bexiga; **8** - Cérebro – amígdala; **9** - Cérebro – córtex cingulado anterior (BA24); **10** - Cérebro – núcleo caudado (gânglio basal); **11** - Cérebro – hemisfério cerebelar; **12** - Cérebro – cerebelo; **13** - Cérebro – córtex; **14** - Cérebro – córtex frontal (BA9); **15** - Cérebro – hipocampo; **16** - Cérebro – hipotálamo; **17** - Cérebro – núcleo accumbens (gânglio basal); **18** - Cérebro – núcleo putamen (gânglio basal); **19** - Cérebro – medula espinhal (cervical c-1); **20** - Cérebro – substância negra; **21** - Tecido mamário; **22** - Células – linfócitos transformados EBV; **23** - Células – fibroblastos transformados; **24** - Cérvix – ectocérvix; **25** - Cérvix – endocérvix; **26** - Cólon – sigmoide; **27** - Cólon – transverso; **28** - Esôfago – junção gastroesofágica; **29** - Esôfago – mucosa; **30** - Esôfago – muscular; **31** - Tubas uterinas; **32** - Coração – apêndice atrial; **33** - Coração – ventrículo esquerdo; **34** - Rim – córtex; **35** – Fígado; **36** – Pulmão; **37** - Glândula salivar menor; **38** - Músculo – esquelético; **39** - Nervo – tibial; **40** – Ovário; **41** – Pâncreas; **42** – Hipófise; **43** – Próstata; **44** - Pele – não exposta ao sol – suprapúbica; **45** - Pele – exposta ao sol – perna inferior; **46** - Intestino delgado – íleo terminal; **47** – Baço; **48** – Estômago; **49** – Testículo; **50** – Tireóide; **51** – Útero; **52** – Vagina; **53** – Sangue.

NOTA 3: Os valores de expressão estão em TPM (Transcritos Por Milhão).

FONTE: adaptado de GTEXPORTAL (2018).

Ambos RNAm de IGF1R e IGF2R são abundantes no epitélio de superfície e glandular e menos abundante nas células estromais do endométrio durante as fases proliferativas e secretória. Não foram observadas no estudo de ZHOU e colaboradores (1994) mudanças dramáticas nos níveis de RNAm de IGF1R e IGF2R no estroma ou epitélio na fase secretória relativo aos níveis na fase proliferativa.

Em acréscimo, os RNAm, em particular de IGF1R, são altamente expressos pelo epitélio endometrial, sugerindo que IGF podem também estimular a proliferação e diferenciação por mecanismos parácrinos, com ligantes originando no estroma e difundindo para as camadas celulares epiteliais da superfície das glândulas endometriais. Em concordância com esta visão, dados imunohistoquímicos mostram IGF1R concentrado no epitélio uterino (SALMON & DAUGHADAY, 1957; ZAPF et al., 1978).

Os resultados no estudo de GIUDICE e colaboradores (1993) mostram que RNAm codificando IGF1, IGF2, IGF1R e IGF2R são diferencialmente expressos no endométrio uterino humano durante o ciclo menstrual e durante o início da gravidez.

#### 4.7.3 Variabilidade genética do gene *IGF1R*

Polimorfismos de nucleotídeo único (SNP, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*) são variantes da sequência de DNA que ocorrem quando um único nucleotídeo no genoma é alterado. SNPs correspondem a mais de 90% de todas as variações genéticas humanas, estando presentes em uma cada 100-300 bases no genoma humano de mais de 3 bilhões de bases nitrogenadas, apesar de variarem de densidade dependendo da região do genoma (LEE et al., 2005). SNPs podem ser encontrados tanto em regiões codificantes como em regiões não codificantes.

Inúmeros SNPs não acarretam em mudança na função da proteína, entretanto, outros podem predispor a doenças ou influenciar na resposta a um determinado medicamento. SNPs não-sinônimos (nsSNP) levam a substituição de um aminoácido na proteína e, por isso, são de interesse, já que são responsáveis por aproximadamente metade da variação genética humana conhecida causadora de doenças hereditárias (KRAWCZAK et al., 2000). SNPs sinônimos (sSNP) e SNPs que ocorrem fora da região promotora de um gene ou ainda fora das regiões codificantes podem ter consequências na expressão, *splicing* ou ligação de fatores de transcrição (PROKUNINA & ALARCÓN-RIQUELME, 2004; STENSON et al., 2009).

O modo de escolha do conjunto de genes a ser investigado é crítico para o sucesso de estudos de associação. Uma maneira de escolha é priorizar os SNP de acordo com sua significância funcional (SCHORK et al., 2000; EMAHAZION, 2001) utilizando ferramentas de bioinformática, que podem ajudar a discriminar SNPs neutros de SNPs que provavelmente têm uma importância funcional. Caso não seja feita uma pré-seleção cuidadosa dos SNP a serem analisados, um grande número de indivíduos se torna necessário para detectar a associação com um nível razoável de significância estatística (RAMENSKY et al., 2002).

Doenças humanas causadas por mutações ou alterações nos níveis de membros da família IGF não são comuns (SAVAGE et al., 2010; DAUBER et al., 2014; LEK et al., 2016). E apenas uns poucos indivíduos com defeitos homozigotos ou heterozigotos para o gene *IGF1* foram reportados (WOODS et al., 1996; BONAPACE et al., 2003; WALENKAMP et al., 2005; VAN DUYNENVOORDE et al., 2010; NETCHINE et al., 2011; FUQUA et al., 2012; BATEY et al., 2014).

Uma variedade da maioria das mutações com substituições de aminoácidos heterozigotas também foram identificadas no *IGF1R* de crianças que foram pequenos para a idade gestacional e que falharam no *catch-up* de crescimento pós-natal (KLAMMT et al., 2011; GANNAGE-YARED et al., 2013; WALENKAMP et al., 2013; BURKHARDT et al., 2015; PRONTERA et al., 2015).

Alencar & Lopes (2010) investigaram o impacto funcional e estrutural de todos os SNPs presentes no gene *IGF1R*. Dados de polimorfismos foram retirados da base de dados dbSNP (SHERRY et al., 2001). Um total de 2412 SNPs foram identificados, sendo que 32 eram nsSNP (*non-synonymous* SNP) (1,3%), 58 eram sSNP (*synonymous* SNP) (2,4%), 83 estavam localizados na região 3'-UTR do RNAm (3,4%) e 2225 se localizavam em regiões intrônicas (92,2%). Não foram encontrados SNP na região 5'-UTR.

Alencar & Lopes (2010) selecionaram apenas as mutações *missense* (com troca de aminoácido) para análise. Oito nsSNP foram identificados como sendo deletérios com um índice de tolerância  $\leq 0,05$ , cinco dos quais (rs61740868, rs45578132, rs45553041, rs45526336, and rs45504297) mostraram-se altamente deletérios (tolerância 0,00), dois (rs45524940 e rs45512296) com tolerância de 0,001 e um (rs45445894) com tolerância de 0,03. De acordo com FASTSNP, dos 58 sSNP no gene *IGF1R*, 31 predisseram dano com um risco de 2-3 e possível efeito funcional na regulação do *splicing*. Destes, o SNP rs2229765 já foi associado a um maior risco

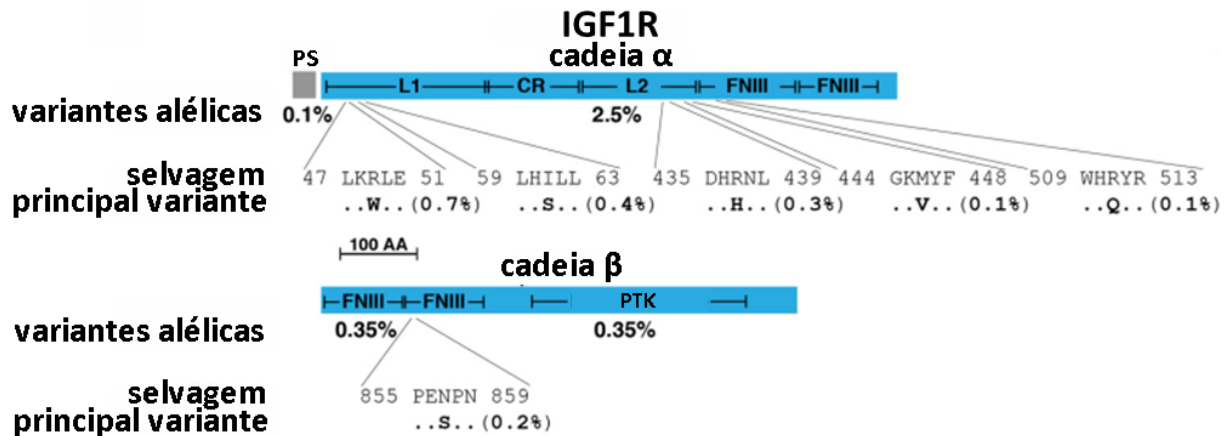
de derrame isquêmico na população chinesa (CHENG et al., 2008), assim como aumento da concentração plasmática de IGF1R foi associado a uma puberdade prematura (BONAFÈ et al., 2003; ROLDAN et al., 2007) e também à variação de altura da população adulta (CHIA et al., 2008). Dos 2225 SNPs na região intrônica, três (rs55895813, rs36108138 and rs45495500) tem um risco de 3-4 de afetar sítios de *splicing*. Um SNP *nonsense* (rs45437300) tem um alto risco (5-5) de ser danoso, visto que pode quebrar e inclusive inativar a proteína IGF1R.

ROTWEIN (2017) realizou uma análise em larga-escala da variação genética na família IGF utilizando o exoma de mais de 60000 indivíduos participantes do *Exome Aggregation Consortium*. Rotwein determinou que a variação genética populacional no gene *IGF1R* era similar a encontrada no gene *IR* (3,3% e 2,1%, respectivamente). A frequência alélica da maioria das variações genéticas encontradas nos genes da família IGF é menor que 0,1%, sendo, portanto, extremamente raras.

A FIGURA 12 mostra o diagrama do precursor da proteína IGF1R, discriminando seus principais domínios e sinalizando a frequência das principais variantes alélicas encontradas no gene IGF1R.

Uma possível limitação para o estudo de ROTWEIN (2017) é que 60% dos participantes eram de ancestralidade europeia e apenas 8% eram ou de origem africana ou de origem latina. Portanto, o índice real de variação genética no gene IGF1R pode não estar completamente determinado.

Para a população do estudo de ROTWEIN (2017), foram encontradas 413 mutações de troca de aminoácidos para o gene IGF1R, sendo que 382 estavam presentes em menos de 0,01% da população, 25 em menos de 0,1% da população e 6 em menos de 1% da população, sendo que não havia mutações em uma frequência acima de 1% na população investigada.

FIGURA 12 – VARIABILIDADE GENÉTICA POPULACIONAL DE *IGF1R* HUMANO

NOTA: Principais domínios da proteína madura estão indicados: L1 e L2 – domínios grandes 1 e 2, do inglês, *large domains 1 and 2*; CR – domínio rico em cisteína; do inglês, *cystein-rich domains*; FNIII – elementos de fibronectina do tipo III, do inglês, *fibronectin type III elements*; PTK: Região de tirosina-Kinase, do inglês, *protein tyrosine-kinase region*. A prevalência das variantes alélicas mais significantes em cada parte do precursor da proteína madura está listada em porcentagem abaixo de cada domínio da proteína.

FONTE: adaptado de ROTWEIN (2017).

O número de variantes alélicas que mostram mudanças em sítios de *splicing*, alterações no quadro de leitura e adição de *stop* códons são muito raras entre genes da família *IGF*, tendo uma frequência na população entre 0,002 – 0,2% (ROTWEIN, 2017). Mutações que impactam a função da proteína ou causam aumento drástico na expressão também parecem ser raras nesta família de proteínas (POLLAK, 2012).

YEE e colaboradores (1989) descreveram um RNAm alternativo para o IGF1R no qual há uma deleção de 3 pares de base (CAG) que resulta na substituição de uma Arg (arginina) por Thr898Gly899 (treonina na posição 898 e glicina na posição 899) oito resíduos antes de se iniciar a região transmembrana de IGF1R. A isoforma com deleção da trinca de bases (CAG-) mostrou uma taxa de internalização reduzida e um aumento das propriedades de sinalização em comparação com a isoforma sem a deleção destes pares de base (CAG+) (CONDORELLI et al., 1994).

A deleção homocigota parcial de IGF1R em camundongos está associada ao atrofiamento e redução do peso, assim como interrompe o surto de crescimento puberal. Uma completa inativação de IGF1R é letal no período neonatal (KLAMMT et al., 2008). A deleção do gene IGF1R murino causa marcada falha no crescimento pré-natal (animais afetados apresentaram peso ao nascimento 55% menor do que animais não afetados), com os neonatos afetados morrendo de insuficiência respiratória (LIU et al., 1993).



Apesar da grande quantidade de informações em modelos experimentais, evidências em humanos são escassas. Existem algumas mutações detectadas no gene *IGF1R* que estão associadas com crescimento pós-natal em humanos, particularmente em casos de restrição do crescimento intra-uterino (ABUZZAHAB et al., 2003; HAMMER et al., 2004; KAWASHIMA et al., 2005; WALENKAMP et al., 2006; INAGAKI et al., 2007). Entretanto, até o presente momento não foram encontradas mutações homozigotas em *IGF1R* humano e isto pode estar relacionado com a letalidade do *knockout* de *IGF1R* (ABUZZAHAB et al., 2003; CANNARELLA et al., 2018). Além disso, não é conhecido atualmente se polimorfismos em *IGF1R* tem algum efeito nos tratos reprodutivos masculino e feminino, além de efeito na fertilidade (YANG et al., 2013).

Através da consulta à base de dados dbSNP, do NCBI, e tendo como base a sequência do gene *IGF1R* disponibilizada nas bases de dados Ensembl e NCBI, foram construídas as TABELA 2 e TABELA 3, que indicam a quantidade de variantes genéticas encontrados em cada um dos 21 éxons e 20 íntrons do gene *IGF1R*, além das regiões 5'-UTR e 3'-UTR, destacando a quantidade de polimorfismos por tipo de variante genética, por frequência alélica mínima (MAF, do inglês, *minor allele frequency*) e por significância clínica.

A partir da análise da TABELA 2, observa-se que o gene *IGF1R* apresenta um total de 81061 variantes, com uma média de uma variante genética descrita a cada 3,9 nucleotídeos. As regiões que apresentam uma maior quantidade de variantes por nucleotídeo são: éxon 1 (1 variante a cada 2,000 nucleotídeos), região 5'-UTR (1 variante a cada 2,015 nucleotídeos), éxon 21 (1 variante a cada 2,208 nucleotídeos), éxon 3 (1 variante a cada 2,545 nucleotídeos), região 3'-UTR (1 variante a cada 2,587 nucleotídeos).

Entretanto, dentre as variantes genéticas presentes no éxon 1, nenhuma apresenta  $MAF > 0,01$ . A região 5'-UTR apresenta apenas 1 variante com  $MAF > 0,2$ , rs536189507, apenas 2 apresentam  $0,2 > MAF > 0,1$ , rs13379905 e rs80262698, uma variante, rs533518937, apresenta  $0,1 > MAF > 0,05$  e rs544674838, rs184007147 e rs531415441 são as variantes na região que apresentam  $0,05 > MAF > 0,01$ . O éxon 21 não apresenta variantes genéticas com  $MAF > 0,1$  e apresenta apenas 1 variante com  $MAF > 0,05$ , rs17847203. O éxon 3 não apresenta nenhuma variante com  $MAF > 0,05$  e apresenta 3 com  $0,05 > MAF > 0,01$ , rs2229764, rs34430460 e rs56303650. Os dados

destas tabelas corroboram com os encontrados por ROTWEIN (2017), evidenciando que a variabilidade genética no exoma de *IGF1R* é extremamente baixa.

Já a região 3'-UTR apresenta 10 variantes genéticas com  $MAF > 0,2$ , 6 variantes com  $0,2 > MAF > 0,1$ , 8 variantes com  $0,1 > MAF > 0,05$  e 20 variantes com  $0,05 > MAF > 0,01$ . A TABELA 4 indica a posição genômica e o MAF de cada uma das variantes deste éxon. A região 3'-UTR é conhecidamente uma região que atua na regulação da expressão gênica, podendo ser alvo da ligação de miRNAs reguladores, como já foi reportado por KANG e colaboradores (2015b) para miRNA-145 que se liga a região 3'-UTR do gene *IGF1R* regulando sua expressão. Os mesmos autores indicaram que uma maior expressão de miRNA-145 foi evidenciada em mulheres com falha recorrente da implantação embrionária.

Quando é observada a significância clínica das variantes genéticas no gene *IGF1R*, do total de 81061 variantes, 80795 não foram avaliadas neste quesito, indicando que ainda são necessários diversos estudos de associação para determinar a significância clínica de mais de 99,5% das variantes genéticas já identificadas no gene *IGF1R*. Dentre as pouco mais de 60 variantes com significado clínico determinado, apenas uma variante no íntron 7-8 é considerada patogênica, rs1057524426, mas não foi reportada a doença com a qual esta variante está associada.

TABELA 2 – VARIANTES GENÉTICAS PRESENTES NO GENE *IGF1R* DE ACORDO COM TIPO DE VARIAÇÃO GENÉTICA

REGIÃO	NUCLEOTÍDEO DE INÍCIO	NUCLEOTÍDEO DE TÉRMINO	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb)	TOTAL DE VARIANTES GENÉTICAS	NUCLEOTÍDEOS POR VARIANTE GENÉTICA	TIPO DE VARIANTE GENÉTICA												
						5'UTR	3'UTR	SÍTIO DE SPLICING A 5'	SÍTIO DE SPLICING A 3'	SINÔNIMA	NÃO-SINÔNIMA	SEM SENTIDO	TROCA DE JANELA DE LEITURA	GANHO DE CÓDON DE PARADA	INTRÔNICA			
5' UTR	98648539	98649581	1042	517	2,015473888	517												
E 1	98649582	98649675	94	47	2					18	27		1					1
I 1-2	98649676	98707561	57886	14987	3,862414092	146		2		14	36		2					14987
E 2	98707562	98708107	546	153	3,568627451	75				67	82	3	6			3		
I 2-3	98708108	98891324	183217	45358	4,039353587	28												45358
E 3	98891325	98891637	313	123	2,544715447	105					76		2					
I 3-4	98891638	98896756	5119	1339	3,82300224				1									1338
E 4	98896757	98896905	149	41	3,634146341					19	22							
I 4-5	98896906	98899476	2571	606	4,242574257			1	1									604
E 5	98899477	98899621	145	37	3,918918919					22	16		1					
I 5-6	98899622	98908684	9063	2290	3,957641921	36												2290
E 6	98908685	98908899	215	47	4,574468085	22				23	24							
I 6-7	98908900	98911314	2415	711	3,396624473				1									710
E 7	98911315	98911441	127	43	2,953488372					20	23	1					1	
I 7-8	98911442	98913043	1602	443	3,616252822			1	1									441
E 8	98913044	98913282	239	76	3,144736842					31	45	1	1			1		
I 8-9	98913283	98915963	2681	646	4,150154799													646
E 9	98915964	98916131	168	53	3,169811321					25	28							
I 9-10	98916132	98916671	540	166	3,253012048													166
E 10	98916672	98916876	205	61	3,360655738					21	39		1					
I 10-11	98916877	98922147	5271	1380	3,819565217													1380
E 11	98922148	98922431	284	90	3,155555556					32	59		1					
I 11-12	98922432	98923875	1444	385	3,750649351													385
E 12	98923876	98924012	137	29	4,724137931					9	19	2					2	
I 12-13	98924013	98924524	512	146	3,506849315			1										145
E 13	98924525	98924684	160	55	2,909090909					22	31	1	1			1		
I 13-14	98924685	98929557	4873	1280	3,80703125				1									1280
E 14	98929558	98929660	103	35	2,942857143				1	14	19		1				1	
I 14-15	98929661	98930234	574	137	4,189781022													137
E 15	98930235	98930305	71	16	4,4375					9	7							
I 15-16	98930306	98934823	4518	1127	4,008873114													1127
E 16	98934824	98935053	230	62	3,709677419					22	39		1					
I 16-17	98935054	98935315	262	71	3,690140845				1									70
E 17	98935316	98935426	111	22	5,045454545					7	15							
I 17-18	98935427	98939200	3774	936	4,032051282													936
E 18	98939201	98939360	160	46	3,47826087					18	28		1					
I 18-19	98939361	98942922	3562	880	4,047727273			1										879
E 19	98942923	98943052	130	34	3,823529412					15	15	2	2			2		
I 19-20	98943053	98948573	5521	1352	4,083579882													1352
E 20	98948574	98948708	135	37	3,648648649					13	23	1					1	
I 20-21	98948709	98957060	8352	2284	3,656742557													2284
E 21	98957061	98957442	382	173	2,208092486					49	114	3	5			3		
3'UTR	98957443	98964530	7088	2740	2,586861314													176
TOTAL	98648539	98964530	315991	81061	3,898187785	929	2740	8	7	520	787	14	26			14		76693

NOTA: E: éxon; I: íntron; pb: pares de base.

FONTE: O Autor (2018). Baseado em dados de Ensembl (ZERBINO et al., 2017) e dbSNP (SHERRY et al., 2001).

TABELA 3 – VARIANTES GENÉTICAS PRESENTES NO GENE *IGF1R* DE ACORDO COM MAF GLOBAL E SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA

REGIÃO	NUCLEOTÍDEO DE INÍCIO	NUCLEOTÍDEO DE TÉRMINO	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb)	TOTAL DE VARIANTES GENÉTICAS	NUCLEOTÍDEOS POR VARIANTE GENÉTICA	MAF GLOBAL				SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA					
						MAF>0.2	MAF>0.1	MAF>0.05	MAF>0.01	BENIGNA	PROVAVELMENTE BENIGNA	SIGNIFICADO INCERTO	PROVAVELMENTE PATOGÊNICA	PATOGÊNICA OUTRA	NÃO TESTADO
5' UTR	98648539	98649581	1042	517	2,015473888	1	3	4	7	1	1	1			514
E 1	98649582	98649675	94	47	2										47
I 1-2	98649676	98707561	57886	14987	3,862414092	70	157	172	287			1			14986
E 2	98707562	98708107	546	153	3,568627451							2	1		147
I 2-3	98708108	98891324	183217	45358	4,039353587	198	318	448	859			1		3	45357
E 3	98891325	98891637	313	123	2,544715447				3			1			119
I 3-4	98891638	98896756	5119	1339	3,82300224	6	9	15	27			3			1339
E 4	98896757	98896905	149	41	3,634146341										41
I 4-5	98896906	98899476	2571	606	4,242574257	2	3	6	7			1			605
E 5	98899477	98899621	145	37	3,918918919										37
I 5-6	98899622	98908684	9063	2290	3,957641921	18	20	30	50			1			2289
E 6	98908685	98908899	215	47	4,574468085							2			45
I 6-7	98908900	98911314	2415	711	3,396624473	8	10	10	20			1			709
E 7	98911315	98911441	127	43	2,953488372					1		2			39
I 7-8	98911442	98913043	1602	443	3,616252822	3	7	8	10	1				1	441
E 8	98913044	98913282	239	76	3,144736842							2			74
I 8-9	98913283	98915963	2681	646	4,150154799	6	8	8	11			1			645
E 9	98915964	98916131	168	53	3,169811321					1		5	1		46
I 9-10	98916132	98916671	540	166	3,253012048	1	2	2	3				1		165
E 10	98916672	98916876	205	61	3,360655738							2			59
I 10-11	98916877	98922147	5271	1380	3,819565217	5	10	17	25			1			1379
E 11	98922148	98922431	284	90	3,155555556			1	1	1		1		1	87
I 11-12	98922432	98923875	1444	385	3,750649351	2	4	6	10						385
E 12	98923876	98924012	137	29	4,724137931					1					28
I 12-13	98924013	98924524	512	146	3,506849315				1						146
E 13	98924525	98924684	160	55	2,909090909							1	2		52
I 13-14	98924685	98929557	4873	1280	3,80703125	12	14	20	30						1280
E 14	98929558	98929660	103	35	2,942857143							1			34
I 14-15	98929661	98930234	574	137	4,189781022				1						137
E 15	98930235	98930305	71	16	4,4375										16
I 15-16	98930306	98934823	4518	1127	4,008873114	11	16	17	23						1127
E 16	98934824	98935053	230	62	3,709677419	1	1	1	1	1		2			59
I 16-17	98935054	98935315	262	71	3,690140845				1	4			1		70
E 17	98935316	98935426	111	22	5,045454545										22
I 17-18	98935427	98939200	3774	936	4,032051282	14	16	21	24						936
E 18	98939201	98939360	160	46	3,47826087							2			44
I 18-19	98939361	98942922	3562	880	4,047727273	7	14	16	22						880
E 19	98942923	98943052	130	34	3,823529412										34
I 19-20	98943053	98948573	5521	1352	4,083579882	10	12	17	29						1352
E 20	98948574	98948708	135	37	3,648648649							2			35
I 20-21	98948709	98957060	8352	2284	3,656742557	18	28	36	51						2284
E 21	98957061	98957442	382	173	2,208092486				1	1		9		0	163
3'UTR	98957443	98964530	7088	2740	2,586861314	10	16	24	44	13	26	159		1	2541
TOTAL	98648539	98964530	315991	81061	3,898187785	403	669	881	1551	20	36	199	4	1	80795

NOTA: E: éxon; I: íntron; pb: pares de base; MAF: frequência alélica mínima, do inglês, *Minor Allele Frequency*

FONTE: O Autor (2018). Baseado em dados de Ensembl (ZERBINO et al., 2017) e dbSNP (SHERRY et al., 2001).

TABELA 4 – SNPs DO ÉXON 21 DO GENE *IGF1R* QUE APRESENTAM MAF>0,1

SNP	Posição Genômica	MAF
rs1815009	98961442	0,4095
rs2016347	98960571	0,4832
rs2654981	98961900	0,4317
rs3743249	98962194	0,4016
rs3743250	98962087	0,2033
rs2684788	98961208	0,492
rs5554267	98960300	0,2025
rs397772788	98958710	0,475
rs397836919	98960299	0,4872
rs398058004	98959983	0,2141
rs702497	98958352	0,1194
rs3743215	98960900	0,1971
rs2684786	98962256	0,1044
rs9282715	98960607	0,1575
rs45484096	98957859	0,1951
rs397824005	98960462	0,1234

FONTE: O Autor (2018) e adaptado de dbSNP (SHERRY et al., 2001).

#### 4.7.4 miRNAs que tem como alvo o gene *IGF1R*

MicroRNAs (miRNAs) são uma classe de moléculas de RNA não codificantes de 18 a 22 nucleotídeos de comprimento que apresentam um papel na regulação da expressão genética (LAU et al., 2001; LIM et al., 2003). miRNAs são considerados reguladores negativos da expressão genética de uma enorme gama de genes e, devido a sua natureza promíscua, um miRNA pode regular mais de 100 genes alvo (AMBROS, 2004; FARH et al., 2005; LIM et al., 2005; FILIPOWICZ et al., 2008). A expressão alterada de miRNAs poderia levar a um aumento ou diminuição da expressão de um gene alvo, como por exemplo, o gene *IGF1R* (KROPP et al., 2014).

Ao se ligar a diferentes genes, miRNAs podem desempenhar funções de morfogênese, manutenção tecidual, crescimento celular, diferenciação, apoptose e regulação do metabolismo (OUELLET et al., 2006; SONG & TUAN, 2006).

Segundo a base de dados miRDB, o gene *IGF1R* é predito ser alvo de 185 miRNAs (WONG & WANG, 2015; WANG, 2016). Já segundo a base de dados mirDIP, existem 234 miRNAs que tem como alvo o gene *IGF1R* com score muito alto (SHIRDEL et al., 2011; TOKAR et al., 2018).

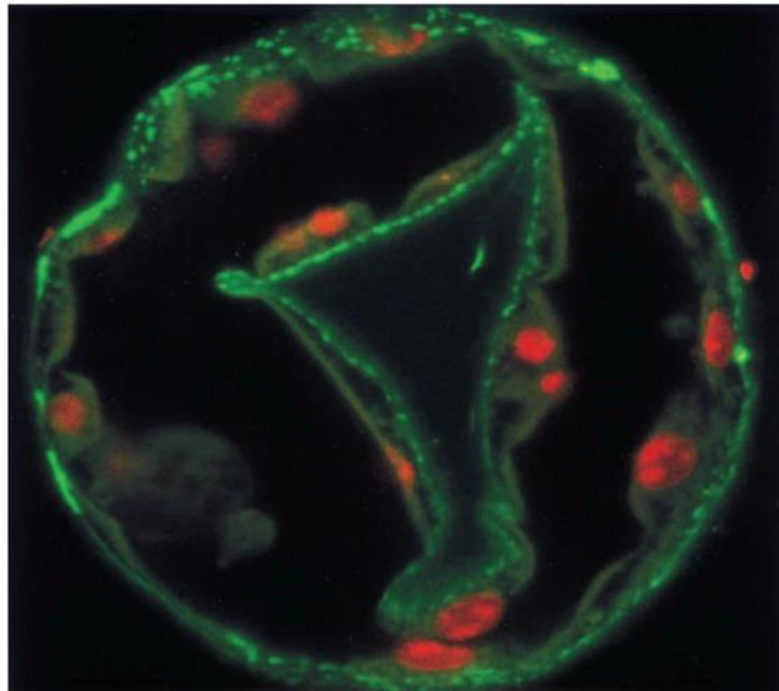
#### 4.8 INFLUÊNCIA DE IGF1R NA IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA

Baseando-se na literatura científica, buscou-se compilar dados que comprovem tanto a expressão do gene *IGF1R* quanto a presença da proteína durante o período implantacional, dando suporte a prerrogativa de que IGF1R exerce influência sobre o processo implantacional. Também buscaram-se evidências de que alterações na funcionalidade de IGF1R induzem a uma alteração na implantação embrionária.

SMOTRICH e colaboradores (1996) detectaram a presença da proteína IGF1R no estágio de 16 células. LIGHTEN e colaboradores (1997a) detectaram a expressão do RNAm de IGF1R em todos os estágios do desenvolvimento pré-compactação. Em um estudo mais recente por KAWAMURA e colaboradores (2012) o RNAm de IGF1R foi detectado em embriões em estágio de 8 células.

A FIGURA 13 mostra uma imagem de microscopia confocal mostrando a expressão do receptor IGF1R em TE de blastocistos humanos.

FIGURA 13 – MICROSCOPIA CONFOCAL MOSTRANDO A EXPRESSÃO DE IGF1R EM TE DE BLASTOCISTOS HUMANOS



NOTA: Coloração verde representa a expressão de IGF1R; Coloração vermelha representa núcleo; A invaginação de TE no centro da imagem se deve ao leve colapso do blastocisto após a montagem da lâmina de microscopia.

FONTE: HARDY & SPANOS (2002).

Segundo MARUO e colaboradores (1995), ABU-AMERO e colaboradores (1998) e BEDZHOV e colaboradores (2012) demonstraram que IGF1R é expresso nas células apicais do trofoblasto, que são as células responsáveis pelo primeiro contato com o epitélio uterino durante a implantação embrionária, sugerindo um papel primordial na implantação (GREEN & DAY, 2014; KANG et al., 2015b). Já estudos de SLATER & MURPHY (1999) demonstraram que, em camundongos, IGF1 é fortemente expresso na lâmina basal e na superfície apical das células epiteliais endometriais, que são sítios onde ocorre a invasão e adesão do blastocisto ao trofoblasto, respectivamente.

A expressão de IGF1R também já foi previamente reportada durante o período pré-implantacional no útero de camundongo (KAPUR et al., 1992) e a expressão de seu RNAm também é alta no endométrio humano na fase secretória (GIUDICE et al., 1993). Recentemente, a expressão da proteína IGF1R foi demonstrada em todas as fases do ciclo menstrual, mas sua expressão é mais alta no epitélio luminal endometrial na metade para o final da fase secretória (KANG et al., 2015b). Em experimentos *in vivo*, a mais alta expressão do RNAm de IGF1R foi evidenciada durante o período peri-implantacional em comparação com o período pré-implantacional (SIROHI et al., 2018).

Análise de ligação com IGF1R em embriões de galinha durante a gastrulação e neurulação (BASSAS et al., 1985; GIRBAU et al., 1989) confirmaram que o IGF1R também é expresso nesses estágios do desenvolvimento, já que foram encontradas atividades tirosina-kinase dependentes de IGF1R em embriões de 2 dias (GIRBAU et al., 1989) e o RNAm de IGF1R foi detectado por PCR em blastodermas de embrião de galinha em dia zero (SCAVO et al., 1991). A expressão de IGF1R em blastoderma de embrião de galinha indica um papel potencial para a sinalização por IGF antes da neurulação e até mesmo antes da gastrulação (ALLAN et al., 2001).

REIJO PERA e colaboradores (2009) destacaram as diferenças significativas na expressão de inúmeros genes na ICM, incluindo componentes das vias de sinalização de TGF- $\beta$  (fator de transformação do crescimento, do inglês, *transforming growth factor- $\beta$* ), IGF e MAPK.

Apesar de já ser conhecida a produção de IGF e IGF1R pelo trato reprodutivo feminino e pelos embriões durante o período pré-implantacional (HARDY & SPANOS, 2002), poucos estudos destacam o papel destes IGF no desenvolvimento embrionário durante este período (REGELA et al., 2015).

Tanto o bloqueio da sinalização de IGF1R quanto sua ativação ineficiente em embriões selvagens (do inglês, *wildtype*) no estágio de mórula com um inibidor específico, induzem a fragmentação celular das células mais externas e bloqueio da formação do trofotoderma funcional. Este resultado revela que a ativação do receptor IGF1R desempenha um papel crucial durante o desenvolvimento pré-implantacional e a atividade kinase do receptor promove um sinal endógeno de sobrevivência em embriões (BEDZHOV et al., 2012). O bloqueio simultâneo de IGF1R e IR tanto de origem maternal quanto zigótica bloqueia a cascata de sinalização intracelular inteira, resultando na indução da apoptose (BEDZHOV et al., 2012).

Adição de IGF1 ao meio de cultura aumenta significativamente a proporção de embriões se desenvolvendo até o estágio de blastocisto em 25% (LIGHTEN et al., 1998; SPANOS et al., 2000). Estes blastocistos tiveram um aumento significativo (59%) no número de células da massa celular interna (LIGHTEN et al., 1998). Cultura de embriões com anticorpo específico para IGF1R revertem os efeitos benéficos de IGF1, demonstrando que ele atua através de IGF1R. Em estudos de SPANOS e colaboradores (2000) foi demonstrado que IGF1 reduz significativamente a porcentagem de núcleos apoptóticos nos blastocistos humanos em aproximadamente 50%.

Diversos estudos reportam mudanças dinâmicas na expressão de diferentes miRNAs durante o início do desenvolvimento embrionário em mamíferos (TANG et al., 2007; TESFAYE et al., 2009; HOSSAIN et al., 2012; MONDOU et al., 2012; ABD EL NABY et al., 2013). A TABELA 5 resume alguns dos miRNAs já encontrados tanto no endométrio materno como no embrião, assim como os genes alvo.

KROPP e colaboradores (2014) demonstraram diferenças na expressão de 4 miRNAs (miR-181a2, miR-196a2, miR-302c e miR-25) entre embriões degenerados e embriões que atingiram o estado de blastocisto. KROPP e colaboradores (2014) sugerem que miRNAs podem ser seletivamente secretados pelo embrião e que a qualidade embrionária pode estar correlacionada com a expressão de miRNAs.



TABELA 5 – miRNAs EXPRESSOS NO ENDOMÉTRIO E NO EMBRIÃO E SEUS GENES ALVO

miRNA	Espécie	Gene Alvo	Referência
miR-21	humano	KLF12	JIANG et al. (2013)
miR-21	camundongo	Reck	HU et al. (2008)
miR-29a	rato	Bak1, Bmf, Bcl-w	XIA et al. (2014c)
miR-30d	humano	H19, NNMT	MORENO-MOYA et al. (2014)
miR-98	rato	Bcl-xl	XIA et al. (2014b)
miR-101a	camundongo	COX-2	CHAKRABARTY et al. (2007)
miR-141	camundongo	PTEN	LIU et al. (2013)
miR-143	rato	Lifr	TIAN et al. (2015)
miR-145	humano	IGF1R	REVEL et al. (2011b) KANG et al. (2015a)
miR-181a	humano	KLF12	ZHANG et al. (2015)
miR-193	camundongo	GRB7	LI et al. (2014)
miR-199a	camundongo	COX-2	CHAKRABARTY et al. (2007)
miR-199a	camundongo	MUC1	INYAWILERT et al. (2014)
miR-199a	rato	Grb10	XIA et al. (2014a)
miR-200a	camundongo	PTEN	SHEN et al. (2013)
miR-429	camundongo	Pcdh8	LI et al. (2015a)
miR-451	camundongo	Ankrd46	LI et al. (2015b)
miR-542-3p	humano	IGFBP1	TOCHIGI et al. (2014)
let-7a	camundongo	ITGB3	LIU et al. (2012)
let-7a/b	camundongo	MUC1	INYAWILERT et al. (2015)

FONTE: adaptado de LIU et al. (2016)

KANG e colaboradores (2015b) quantificaram os níveis de ancoramento do embrião em células controle (escore de ancoramento 3-5) comparado com células tratadas com miRNA-145 (escore de ancoramento 1-2). miRNA-145 apresenta múltiplos alvos, um dos quais é IGF1R, o qual está presente no endométrio humano (ZHOU et al., 1994). Apesar de não haver mudanças no RNAm de IGF1R, a expressão da proteína IGF1R foi reduzida 48h após a superexpressão de miRNA-145 (KANG et al., 2015b). Ancoramento de embriões de camundongo ou esferas (do inglês, *beads*) cobertos de IGF1 foi reduzido após o *knockdown* de IGF1R. Isto sugere que o efeito do miRNA-145 na adesão embrionária é diretamente mediado por IGF1R (KANG et al., 2015b). Traduzida para a situação *in vivo*, Kang e colaboradores (2015b) predizem que tal efeito pode atrasar a implantação até o ponto que o resgate do corpo lúteo não ocorreria, levando a uma inibição da gestação. Recentemente, a expressão alterada do miRNA-145 foi observada em amostras endometriais de mulheres acometidas com falha recorrente de implantação (RIF, do inglês, *Recurrent Implantation Failure*) (REVEL et al., 2011a).

O modelo *in vitro* de KANG e colaboradores (2015b) sugere que IGF1R apresenta um papel na implantação. A expressão de IGF1R é aumentada no tempo em que o embrião se ancora *in vivo* e a expressão reduzida em células epiteliais desestabiliza o ancoramento do embrião *in vitro*. A expressão reduzida de IGF1R foi reportada no endométrio no meio da fase secretória de mulheres com infertilidade sem causa aparente (WU & ZHOU, 2004).

Apesar de já serem conhecidas alterações na expressão de *IGF1R*, até o presente momento não foram encontradas mutações homozigotas em IGF1R humano e isto pode estar relacionado com a letalidade do *knockout* de IGF1R (ABUZZAHAB et al., 2003; CANNARELLA et al., 2018). Além disso, também não se tem conhecimento sobre o efeito de polimorfismos em *IGF1R* nos tratos reprodutivos masculino e feminino, além da relação com a fertilidade (YANG et al., 2013).

## 5 CONCLUSÃO

Existem evidências científicas suficientes para comprovar a expressão de IGF1R durante o período implantacional e a literatura científica sugere um papel essencial de IGF1R no processo implantacional. Entretanto, a bibliografia científica carece de estudos que comprovem que alterações no gene IGF1R poderiam estar relacionados a defeitos durante a implantação embrionária.

Após cuidadosa revisão, sugere-se que a região 3'-UTR do gene *IGF1R* é uma região de interesse para futura avaliação de associação entre variabilidade genética e implantação embrionária, visto que é uma região que apresenta diversos polimorfismos com alta MAF, facilitando a detecção de variantes genéticas em estudos do tipo caso-controle, e é uma região comprovadamente regulada por miRNAs, inclusive miRNA-145, que tem expressão comprovadamente alterada em mulheres que sofrem falha recorrente de implantação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, A. M.; BUENO, R.; PEDRINI, M. T.; MURRAY, J. M.; SMITH, R. J. Insulin-like growth factor I receptor gene structure. **J Biol Chem.** v. 267, n. 15, p. 10759-10763, 1992.
- ABD EL NABY, W. S.; HAGOS, T. H.; HOSSAIN, M. M.; SALILEW-WONDIM, D.; GAD, A. Y.; RINGS, F.; CINAR, M. U.; THOLEN, E.; LOOFT, C.; SCHELLANDER, K.; HOELKER, M.; TESFAYE, D. Expression analysis of regulatory microRNAs in bovine cumulus oocyte complex and preimplantation embryos. **Zygote.** v. 21, n. 1, p. 31-51, 2013.
- ABU-AMERO, S. N.; ALI, Z.; BENNETT, P.; VAUGHAN, J. I.; MOORE, G. E. Expression of the insulin-like growth factors and their receptors in term placentas: a comparison between normal and IUGR births. **Mol Reprod Dev.** v. 49, n. 3, p. 229-235, 1998.
- ABUZZAHAB, M. J.; SCHNEIDER, A.; GODDARD, A.; GRIGORESCU, F.; LAUTIER, C.; KELLER, E.; KIESS, W.; KLAMMT, J.; KRATZSCH, J.; OSGOOD, D.; PFÄFFLE, R.; RAILE, K.; SEIDEL, B.; SMITH, R. J.; CHERNAUSEK, S. D. IGF-I Receptor Mutations Resulting in Intrauterine and Postnatal Growth Retardation. **New England Journal of Medicine.** v. 349, n. 23, p. 2211-2222, 2003.
- ACCILI, D.; DRAGO, J.; LEE, E. J.; JOHNSON, M. D.; COOL, M. H.; SALVATORE, P.; ASICO, L. D.; JOSÉ, P. A.; TAYLOR, S. I.; WESTPHAL, H. Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. **Nature Genetics.** v. 12, n. p. 106, 1996.
- ACHACHE, H.; REVEL, A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. **Human Reproduction Update.** v. 12, n. 6, p. 731-746, 2006.
- ADAMS, T. E.; EPA, V. C.; GARRETT, T. P. J.; WARD\*, C. W. Structure and function of the type 1 insulin-like growth factor receptor. **Cellular and Molecular Life Sciences.** v. 57, n. 7, p. 1050-1093, 2000.
- AGHAJANOVA, L.; ALTMÄE, S.; BJURESTEN, K.; HOVATTA, O.; LANDGREN, B.-M.; STAVREUS-EVERS, A. Disturbances in the LIF pathway in the endometrium among women with unexplained infertility. **Fertility and Sterility.** v. 91, n. 6, p. 2602-2610, 2009.
- AGHAJANOVA, L.; SIMÓN, C.; HORCAJADAS, J. A. Are favorite molecules of endometrial receptivity still in favor? **Expert Review of Obstetrics & Gynecology.** v. 3, n. 4, p. 487-501, 2008.
- ALENCAR, S. A. D.; LOPES, J. C. A comprehensive in silico analysis of the functional and structural impact of SNPs in the IGF1R gene. **J Biomed Biotechnol.** v. 2010, n. p. 715139, 2010.
- ALLAN, G.; FLINT, D.; PATEL, K. Insulin-like growth factor axis during embryonic development. **Reproduction.** v. 122, n. 1, p. 31-39, 2001.

ALTMAE, S.; MARTINEZ-CONEJERO, J. A.; SALUMETS, A.; SIMON, C.; HORCAJADAS, J. A.; STAVREUS-EVERS, A. Endometrial gene expression analysis at the time of embryo implantation in women with unexplained infertility. **Mol Hum Reprod.** v. 16, n. 3, p. 178-187, 2010.

AMBROS, V. The functions of animal microRNAs. **Nature.** v. 431, n. 7006, p. 350-355, 2004.

AMUTHA, P.; RAJKUMAR, T. Role of Insulin-like Growth Factor, Insulin-like Growth Factor Receptors, and Insulin-like Growth Factor-binding Proteins in Ovarian Cancer. **Indian J Med Paediatr Oncol.** v. 38, n. 2, p. 198-206, 2017.

ANANI, S.; BHAT, S.; HONMA-YAMANAKA, N.; KRAWCHUK, D.; YAMANAKA, Y. Initiation of Hippo signaling is linked to polarity rather than to cell position in the pre-implantation mouse embryo. **Development.** v. 141, n. 14, p. 2813-2824, 2014.

ANNUNZIATA, M.; GRANATA, R.; GHIGO, E. The IGF system. **Acta Diabetologica.** v. 48, n. 1, p. 1-9, 2010.

APLIN, J. D. The cell biological basis of human implantation. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.** v. 14, n. 5, p. 757-764, 2000.

APLIN, J. D.; KIMBER, S. J. Trophoblast-uterine interactions at implantation. **Reproductive biology and endocrinology : RB&E.** v. 2, n. p. 48-48, 2004.

ARMANT, D. R. Blastocysts don't go it alone. Extrinsic signals fine-tune the intrinsic developmental program of trophoblast cells. **Developmental Biology.** v. 280, n. 2, p. 260-280, 2005.

BACH, L. A. Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins--an Update. **Pediatric endocrinology reviews : PER.** v. 13, n. 2, p. 521-530, 2015.

BAI, H. Z.; POLLMAN, M. J.; INISHI, Y.; GIBBONS, G. H. Regulation of Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis : Modulation of Bad by a Phosphatidylinositol 3-Kinase Dependent Pathway. **Circulation Research.** v. 85, n. 3, p. 229-237, 1999.

BAJAJ, M.; WATERFIELD, M. D.; SCHLESSINGER, J.; TAYLOR, W. R.; BLUNDELL, T. On the tertiary structure of the extracellular domains of the epidermal growth factor and insulin receptors. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology.** v. 916, n. 2, p. 220-226, 1987.

BAKER, J.; LIU, J.-P.; ROBERTSON, E. J.; EFSTRATIADIS, A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. **Cell.** v. 75, n. 1, p. 73-82, 1993.

BASERGA, R. The Insulin-like Growth Factor I Receptor: A Key to Tumor Growth? **Cancer Research.** v. 55, n. 2, p. 249-252, 1995.

BASERGA, R. The IGF-I Receptor in Cancer Research. **Experimental Cell Research.** v. 253, n. 1, p. 1-6, 1999.

BASERGA, R. The decline and fall of the IGF-I receptor. **J Cell Physiol.** v. 228, n. 4, p. 675-679, 2013.

BASERGA, R.; HONGO, A.; RUBINI, M.; PRISCO, M.; VALENTINIS, B. The IGF-I receptor in cell growth, transformation and apoptosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer.** v. 1332, n. 3, p. F105-F126, 1997.

BASSAS, L.; PABLO, F. D.; LESNIAK, M. A.; ROTH, J. Ontogeny of Receptors for Insulin-Like Peptides in Chick Embryo Tissues: Early Dominance of Insulin-Like Growth Factor over Insulin Receptors in Brain\*. **Endocrinology.** v. 117, n. 6, p. 2321-2329, 1985.

BATEY, L.; MOON, J. E.; YU, Y.; WU, B.; HIRSCHHORN, J. N.; SHEN, Y.; DAUBER, A. A Novel Deletion of IGF1 in a Patient With Idiopathic Short Stature Provides Insight Into IGF1 Haploinsufficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.** v. 99, n. 1, p. E153-E159, 2014.

BEDZHOV, I.; LISZEWSKA, E.; KANZLER, B.; STEMMLER, M. P. Igf1r Signaling Is Indispensable for Preimplantation Development and Is Activated via a Novel Function of E-cadherin. **PLoS Genetics.** v. 8, n. 3, p. e1002609, 2012.

BELFIORE, A.; FRASCA, F.; PANDINI, G.; SCIACCA, L.; VIGNERI, R. Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/Insulin-Like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease. **Endocrine Reviews.** v. 30, n. 6, p. 586-623, 2009.

BELFIORE, A.; MALAGUARNERA, R. Insulin receptor and cancer. **Endocrine Related Cancer.** v. 18, n. 4, p. R125-R147, 2011.

BERGH, P. A.; NAVOT, D. The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation\*\*Presented at the 46th Annual Meeting of the American Fertility Society, Washington, DC, October 15 to 18, 1990. **Fertility and Sterility.** v. 58, n. 3, p. 537-542, 1992.

BONAFÈ, M.; BARBIERI, M.; MARCHEGANI, F.; OLIVIERI, F.; RAGNO, E.; GIAMPIERI, C.; MUGIANESI, E.; CENTURELLI, M.; FRANCESCHI, C.; PAOLISSO, G. Polymorphic Variants of Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I) Receptor and Phosphoinositide 3-Kinase Genes Affect IGF-I Plasma Levels and Human Longevity: Cues for an Evolutionarily Conserved Mechanism of Life Span Control. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.** v. 88, n. 7, p. 3299-3304, 2003.

BONAPACE, G.; CONCOLINO, D.; FORMICOLA, S.; STRISCIUGLIO, P. A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor 1 (IGF1) deficiency. **Journal of Medical Genetics.** v. 40, n. 12, p. 913-917, 2003.

BORTHWICK, J. M. Determination of the transcript profile of human endometrium. **Molecular Human Reproduction.** v. 9, n. 1, p. 19-33, 2003.

BRAUDE, P.; BOLTON, V.; MOORE, S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. **Nature**. v. 332, n. 6163, p. 459-461, 1988.

BRAULKE, T. Type-2 IGF Receptor: A Multi-Ligand Binding Protein. **Hormone and Metabolic Research**. v. 31, n. 02/03, p. 242-246, 1999.

BROSENS, J. J.; SALKER, M. S.; TEKLENBURG, G.; NAUTIYAL, J.; SALTER, S.; LUCAS, E. S.; STEEL, J. H.; CHRISTIAN, M.; CHAN, Y.-W.; BOOMSMA, C. M.; MOORE, J. D.; HARTSHORNE, G. M.; ŠUĆUROVIĆ, S.; MULAC-JERICEVIC, B.; HEIJNEN, C. J.; QUENBY, S.; GROOT KOERKAMP, M. J.; HOLSTEGE, F. C. P.; SHMYGOL, A.; MACKLON, N. S. Uterine Selection of Human Embryos at Implantation. **Scientific Reports**. v. 4, n. 1, p. 2014.

BROUWER-VISSER, J.; HUANG, G. S. IGF2 signaling and regulation in cancer. **Cytokine Growth Factor Rev**. v. 26, n. 3, p. 371-377, 2015.

BROWN, J.; JONES, E. Y.; FORBES, B. E. (2009). Chapter 25 Interactions of IGF-II with the IGF2R/Cation-Independent Mannose-6-Phosphate Receptor: Mechanism and Biological Outcomes. Vitamins & Hormones, Academic Press. **80**: 699-719.

BRUCHIM, I.; WERNER, H. Targeting IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**. v. 17, n. 3, p. 307-320, 2013.

BURKHARDT, S.; GESING, J.; KAPPELLEN, T. M.; KOVACS, P.; KRATZSCH, J.; SCHLICKE, M.; STOBBE, H.; TÖNJES, A.; KLAMMT, J.; PFÄFFLE, R. Novel heterozygous IGF1R mutation in two brothers with developing impaired glucose tolerance. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**. v. 28, n. 1-2, p. 2015.

CANNARELLA, R.; CONDORELLI, R. A.; LA VIGNERA, S.; CALOGERO, A. E. Effects of the insulin-like growth factor system on testicular differentiation and function: a review of the literature. **Andrology**. v. 6, n. 1, p. 3-9, 2018.

CARSON, D. D.; BAGCHI, I.; DEY, S. K.; ENDERS, A. C.; FAZLEABAS, A. T.; LESSEY, B. A.; YOSHINAGA, K. Embryo Implantation. **Developmental Biology**. v. 223, n. 2, p. 217-237, 2000.

CEDARS, M. **Infertility**. New York. McGraw-Hill, 2005.

CHA, J.; SUN, X.; DEY, S. K. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. **Nature Medicine**. v. 18, n. 12, p. 1754-1767, 2012.

CHAKRABARTY, A.; TRANGUCH, S.; DAIKOKU, T.; JENSEN, K.; FURNEAUX, H.; DEY, S. K. MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 104, n. 38, p. 15144-15149, 2007.

CHAVES, J.; SAIF, M. W. IGF system in cancer. **Anti-Cancer Drugs**. v. 22, n. 3, p. 206-212, 2011.

- CHENG, A. J.; CHEN, L. C.; CHIEN, K. Y.; CHEN, Y. J.; CHANG, J. T.; WANG, H. M.; LIAO, C. T.; CHEN, I. H. Oral cancer plasma tumor marker identified with bead-based affinity-fractionated proteomic technology. **Clin Chem.** v. 51, n. 12, p. 2236-2244, 2005.
- CHENG, J.; LIU, J.; LI, X.; PENG, J.; HAN, S.; ZHANG, R.; XU, Y.; NIE, S. Insulin-like growth factor-1 receptor polymorphism and ischemic stroke: a case-control study in Chinese population. **Acta Neurologica Scandinavica.** v. 118, n. 5, p. 333-338, 2008.
- CHIA, C. M.; WINSTON, R. M.; HANDYSIDE, A. H. EGF, TGF-alpha and EGFR expression in human preimplantation embryos. **Development.** v. 121, n. 2, p. 299-307, 1995.
- CHIA, V. M.; SAKODA, L. C.; GRAUBARD, B. I.; RUBERTONE, M. V.; CHANOCK, S. J.; ERICKSON, R. L.; MCGLYNN, K. A. Risk of Testicular Germ Cell Tumors and Polymorphisms in the Insulin-Like Growth Factor Genes. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.** v. 17, n. 3, p. 721-726, 2008.
- CHOBOTOVA, K.; SPYROPOULOU, I.; CARVER, J.; MANEK, S.; HEATH, J. K.; GULLICK, W. J.; BARLOW, D. H.; SARGENT, I. L.; MARDON, H. J. Heparin-binding epidermal growth factor and its receptor ErbB4 mediate implantation of the human blastocyst. **Mechanisms of Development.** v. 119, n. 2, p. 137-144, 2002.
- CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions. **Cytokine & Growth Factor Reviews.** v. 8, n. 1, p. 45-62, 1997.
- COCKBURN, K.; BIECHELE, S.; GARNER, J.; ROSSANT, J. The Hippo Pathway Member Nf2 Is Required for Inner Cell Mass Specification. **Current Biology.** v. 23, n. 13, p. 1195-1201, 2013.
- COCKBURN, K.; ROSSANT, J. Making the blastocyst: lessons from the mouse. **Journal of Clinical Investigation.** v. 120, n. 4, p. 995-1003, 2010.
- CONDORELLI, G.; BUENO, R.; SMITH, R. J. Two alternatively spliced forms of the human insulin-like growth factor I receptor have distinct biological activities and internalization kinetics. **Journal of Biological Chemistry.** v. 269, n. 11, p. 8510-8516, 1994.
- D'ERCOLE, A.; YE, P.; GUTIERREZ-OSPINA, G. Use of transgenic mice for understanding the physiology of insulin-like growth factors. **Hormone Research in Paediatrics.** v. 45, n. Suppl. 1, p. 5-7, 1996.
- DAOUD, G.; AMYOT, M.; RASSART, É.; MASSE, A.; SIMONEAU, L.; LAFOND, J. ERK1/2 and p38 regulate trophoblasts differentiation in human term placenta. **The Journal of Physiology.** v. 566, n. 2, p. 409-423, 2005.



DAUBER, A.; ROSENFELD, R. G.; HIRSCHHORN, J. N. Genetic Evaluation of Short Stature. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 99, n. 9, p. 3080-3092, 2014.

DE MEYTS, P. Insulin and its receptor: structure, function and evolution. **BioEssays**. v. 26, n. 12, p. 1351-1362, 2004.

DEMETRIOU, C.; ABU-AMERO, S.; THOMAS, A. C.; ISHIDA, M.; AGGARWAL, R.; AL-OLABI, L.; LEON, L. J.; STAFFORD, J. L.; SYNGELAKI, A.; PEEBLES, D.; NICOLAIDES, K. H.; REGAN, L.; STANIER, P.; MOORE, G. E. Paternally expressed, imprinted insulin-like growth factor-2 in chorionic villi correlates significantly with birth weight. **PLoS One**. v. 9, n. 1, p. e85454, 2014.

DENLEY, A.; COSGROVE, L. J.; BOOKER, G. W.; WALLACE, J. C.; FORBES, B. E. Molecular interactions of the IGF system. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. v. 16, n. 4-5, p. 421-439, 2005.

DEY, S. K.; LIM, H.; DAS, S. K.; REESE, J.; PARIA, B. C.; DAIKOKU, T.; WANG, H. Molecular Cues to Implantation. **Endocrine Reviews**. v. 25, n. 3, p. 341-373, 2004.

DÍAZ-CUETO, L.; GERTON, G. L. The Influence of Growth Factors on the Development of Preimplantation Mammalian Embryos. **Archives of Medical Research**. v. 32, n. 6, p. 619-626, 2001.

DOBSON, A. T.; RAJA, R.; ABEYTA, M. J.; TAYLOR, T.; SHEN, S.; HAQQ, C.; PERA, R. A. R. The unique transcriptome through day 3 of human preimplantation development. **Human Molecular Genetics**. v. 13, n. 14, p. 1461-1470, 2004.

DRAKAKIS, P.; VLISMAS, A.; PARTSINEVELOU, G.; DESMARAIS, B.; BLETSAS, R.; KALLIANIDIS, K.; LOUTRADIS, D.; ANTSAKLIS, A.; KIESSLING, A. **Gene expression of hormones and hormone receptors and growth factors and receptors in 8Cell human embryos - their role in early embryonic development**. 2010.

DUDEK, H. Regulation of Neuronal Survival by the Serine-Threonine Protein Kinase Akt. **Science**. v. 275, n. 5300, p. 661-665, 1997.

DUNGLISON, G. F.; BARLOW, D. H.; SARGENT, I. L. Leukaemia inhibitory factor significantly enhances the blastocyst formation rates of human embryos cultured in serum-free medium. **Human Reproduction**. v. 11, n. 1, p. 191-196, 1996.

DUPONT, J.; LEROITH, D. Insulin and Insulin-Like Growth Factor I Receptors: Similarities and Differences in Signal Transduction. **Hormone Research in Paediatrics**. v. 55, n. 2, p. 22-26, 2001.

EBINA, Y.; ELLIS, L.; JARNAGIN, K.; EDERY, M.; GRAF, L.; CLAUSER, E.; OU, J.-H.; MASIARZ, F.; KAN, Y. W.; GOLDFINE, I. D.; ROTH, R. A.; RUTTER, W. J. The human insulin receptor cDNA: The structural basis for hormone-activated transmembrane signalling. **Cell**. v. 40, n. 4, p. 747-758, 1985.

ECHTERNKAMP, S. E.; ROBERTS, A. J.; LUNSTRA, D. D.; WISE, T.; SPICER, L. J. Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births<sup>12</sup>. **Journal of Animal Science**. v. 82, n. 2, p. 459-471, 2004.

EDWARDS, R. Oocyte polarity and cell determination in early mammalian embryos. **Molecular Human Reproduction**. v. 3, n. 10, p. 863-905, 1997.

EDWARDS, R. G. Clinical approaches to increasing uterine receptivity during human implantation. **Human Reproduction**. v. 10, n. suppl 2, p. 60-66, 1995.

EFSTRATIADIS, A. S-5: Genetics of growth: Developmental roles of IGF and insulin receptors. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**. v. 104, n. S 02, p. 4-6, 1996.

EFSTRATIADIS, A. Genetics of mouse growth. **Int J Dev Biol**. v. 42, n. 7, p. 955-976, 1998.

EMAHAZION, T. SNP association studies in Alzheimer's disease highlight problems for complex disease analysis. **Trends in Genetics**. v. 17, n. 7, p. 407-413, 2001.

ENDERS, A. C.; SCHLAFKE, S.; HUBBARD, N. E.; MEAD, R. A. Morphological Changes in the Blastocyst of the Western Spotted Skunk during Activation from Delayed Implantation<sup>1</sup>. **Biology of Reproduction**. v. 34, n. 2, p. 423-437, 1986.

ENGELMAN, J. A.; LUO, J.; CANTLEY, L. C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. **Nature Reviews Genetics**. v. 7, n. 8, p. 606-619, 2006.

EVERS, J. L. H. Female subfertility. **The Lancet**. v. 360, n. 9327, p. 151-159, 2002.

FANG, J.; FURESZ, T. C.; LAURENT, R. S.; SMITH, C. H.; FANT, M. E. Spatial Polarization of Insulin-Like Growth Factor Receptors on the Human Syncytiotrophoblast. **Pediatric Research**. v. 41, n. 2, p. 258-265, 1997.

FARH, K. K.; GRIMSON, A.; JAN, C.; LEWIS, B. P.; JOHNSTON, W. K.; LIM, L. P.; BURGE, C. B.; BARTEL, D. P. The widespread impact of mammalian MicroRNAs on mRNA repression and evolution. **Science**. v. 310, n. 5755, p. 1817-1821, 2005.

FAYARD, E. Protein kinase B/Akt at a glance. **Journal of Cell Science**. v. 118, n. 24, p. 5675-5678, 2005.

FENG, Z.; LEVINE, A. J. The regulation of energy metabolism and the IGF-1/mTOR pathways by the p53 protein. **Trends in Cell Biology**. v. 20, n. 7, p. 427-434, 2010.

FERNANDEZ, R.; TABARINI, D.; AZPIAZU, N.; FRASCH, M.; SCHLESSINGER, J. The Drosophila insulin receptor homolog: a gene essential for embryonic development encodes two receptor isoforms with different signaling potential. **The EMBO journal**. v. 14, n. 14, p. 3373-3384, 1995.

FILIPOWICZ, W.; BHATTACHARYYA, S. N.; SONENBERG, N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? **Nat Rev Genet.** v. 9, n. 2, p. 102-114, 2008.

FORBES, K.; WESTWOOD, M. The IGF Axis and Placental Function. **Hormone Research in Paediatrics.** v. 69, n. 3, p. 129-137, 2008.

FORBES, K.; WESTWOOD, M.; BAKER, P. N.; APLIN, J. D. Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. **Am J Physiol Cell Physiol.** v. 294, n. 6, p. C1313-1322, 2008.

FOULSTONE, E.; PRINCE, S.; ZACCHEO, O.; BURNS, J. L.; HARPER, J.; JACOBS, C.; CHURCH, D.; HASSAN, A. B. Insulin-like growth factor ligands, receptors, and binding proteins in cancer. **The Journal of Pathology.** v. 205, n. 2, p. 145-153, 2005.

FOWDEN, A. The Insulin-like Growth Factors and feto-placental Growth. **Placenta.** v. 24, n. 8-9, p. 803-812, 2003.

FRANKENBERG, S.; GERBE, F.; BESSONNARD, S.; BELVILLE, C.; POUCHIN, P.; BARDOT, O.; CHAZAUD, C. Primitive Endoderm Differentiates via a Three-Step Mechanism Involving Nanog and RTK Signaling. **Developmental Cell.** v. 21, n. 6, p. 1005-1013, 2011.

FRENCH, D. B.; SABANEKH, E. S.; GOLDFARB, J.; DESAI, N. Does severe teratozoospermia affect blastocyst formation, live birth rate, and other clinical outcome parameters in ICSI cycles? **Fertility and Sterility.** v. 93, n. 4, p. 1097-1103, 2010.

FUQUA, J. S.; DERR, M.; ROSENFELD, R. G.; HWA, V. Identification of a Novel Heterozygous IGF1 Splicing Mutation in a Large Kindred with Familial Short Stature. **Hormone Research in Paediatrics.** v. 78, n. 1, p. 59-66, 2012.

GALVAN, V.; LOGVINOVA, A.; SPERANDIO, S.; ICHIJO, H.; BREDESEN, D. E. Type 1 Insulin-like Growth Factor Receptor (IGF-IR) Signaling Inhibits Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 (ASK1). **Journal of Biological Chemistry.** v. 278, n. 15, p. 13325-13332, 2003.

GANNAGE-YARED, M. H.; KLAMMT, J.; CHOUERY, E.; CORBANI, S.; MEGARBANE, H.; ABOU GHOSH, J.; CHOUCAIR, N.; PFAFFLE, R.; MEGARBANE, A. Homozygous mutation of the IGF1 receptor gene in a patient with severe pre- and postnatal growth failure and congenital malformations. **Eur J Endocrinol.** v. 168, n. 1, p. K1-7, 2013.

GARDNER, D. K.; LANE, M.; SCHOOLCRAFT, W. B. Culture and transfer of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF. **Human reproduction (Oxford, England).** v. 15, n. p. 9-23, 2000.

GARRETT, T. P.; MCKERN, N. M.; LOU, M.; FRENKEL, M. J.; BENTLEY, J. D.; LOVRECZ, G. O.; ELLEMAN, T. C.; COSGROVE, L. J.; WARD, C. W. Crystal structure of the first three domains of the type-1 insulin-like growth factor receptor. **Nature.** v. 394, n. 6691, p. 395, 1998.

GHOSH, D.; NAJWA, A.; KHAN, M.; SENGUPTA, J. IGF2, IGF binding protein 1, and matrix metalloproteinases 2 and 9 in implantation-stage endometrium following immunoneutralization of vascular endothelial growth factor in the rhesus monkey. **Reproduction**. v. 141, n. 4, p. 501-509, 2011.

GHOSH, P.; DAHMS, N. M.; KORNFELD, S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. **Nature reviews Molecular cell biology**. v. 4, n. 3, p. 202, 2003.

**GHR**. Disponível em: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/IGF1R#location>. Data acessada: 04/2018

GIRBAU, M.; BASSAS, L.; ALEMANY, J.; DE PABLO, F. In situ autoradiography and ligand-dependent tyrosine kinase activity reveal insulin receptors and insulin-like growth factor I receptors in prepancreatic chicken embryos. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 86, n. 15, p. 5868-5872, 1989.

GIUDICE, L. C.; DSUPIN, B. A.; JIN, I. H.; VU, T. H.; HOFFMAN, A. R. Differential expression of messenger ribonucleic acids encoding insulin-like growth factors and their receptors in human uterine endometrium and decidua. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 76, n. 5, p. 1115-1122, 1993.

GLUCKMAN, P.; KLEMPT, N.; GUAN, J.; MALLARD, C.; SIRIMANNE, E.; DRAGUNOW, M.; KLEMPT, M.; SINGH, K.; WILLIAMS, C.; NIKOLICS, K. A role for IGF-1 in the rescue of CNS neurons following hypoxic-ischemic injury. **Biochemical and biophysical research communications**. v. 182, n. 2, p. 593-599, 1992.

GONZALEZ, E.; MCGRAW, T. E. The Akt kinases: isoform specificity in metabolism and cancer. **Cell cycle**. v. 8, n. 16, p. 2502-2508, 2009.

GRAF, R.; NEUENSCHWANDER, S.; BROWN, M.; ACKERMANN, U. Insulin-mediated secretion of ecdysteroids from mosquito ovaries and molecular cloning of the insulin receptor homologue from ovaries of bloodfed *Aedes aegypti*. **Insect molecular biology**. v. 6, n. 2, p. 151-163, 1997.

GREEN, C. J.; DAY, M. L. Insulin-like growth factor 1 acts as an autocrine factor to improve early embryogenesis in vitro. **International Journal of Developmental Biology**. v. 57, n. 11-12, p. 837-844, 2014.

**GROWTHGENETICS**. Disponível em: <http://www.growthgenetics.com/dispatch.fcgi/c f/gene/IGF1R>. Data acessada: 05/2018

**GTEXPORTAL**. Disponível em: <https://www.gtexportal.org/home/gene/IGF1R>. Data acessada: 04/2018

HAMMER, E.; KUTSCHE, K.; HAAG, F.; ULLRICH, K.; SUDBRAK, R.; WILLIG, R. P.; BRAULKE, T.; KUBLER, B. Mono-allelic expression of the IGF-I receptor does not affect IGF responses in human fibroblasts. **European journal of endocrinology**. v. 151, n. 4, p. 521-529, 2004.

HARDY, K.; SPANOS, S. Growth factor expression and function in the human and mouse preimplantation embryo. **J Endocrinol.** v. 172, n. 2, p. 221-236, 2002.

HARRINGTON, E. A.; BENNETT, M. R.; FANIDI, A.; EVAN, G. c-Myc-induced apoptosis in fibroblasts is inhibited by specific cytokines. **The EMBO Journal.** v. 13, n. 14, p. 3286-3295, 1994.

HARRIS, L. K.; CROCKER, I. P.; BAKER, P. N.; APLIN, J. D.; WESTWOOD, M. IGF2 actions on trophoblast in human placenta are regulated by the insulin-like growth factor 2 receptor, which can function as both a signaling and clearance receptor. **Biology of reproduction.** v. 84, n. 3, p. 440-446, 2011.

HATANO, N.; MORI, Y.; OH-HORA, M.; KOSUGI, A.; FUJIKAWA, T.; NAKAI, N.; NIWA, H.; MIYAZAKI, J. I.; HAMAOKA, T.; OGATA, M. Essential role for ERK2 mitogen-activated protein kinase in placental development. **Genes to Cells.** v. 8, n. 11, p. 847-856, 2003.

HERTIG, A. T.; ROCK, J.; ADAMS, E.; MULLIGAN, W. On the preimplantation stages of the human ovum-A description of 4 normal and 4 abnormal specimens ranging from the 2nd to the 5th day of development. **Contributions to Embryology.** v. 35, n. 240, p. 201-&, 1954.

HIRATE, Y.; HIRAHARA, S.; INOUE, K.; SUZUKI, A.; ALARCON, V. B.; AKIMOTO, K.; HIRAI, T.; HARA, T.; ADACHI, M.; CHIDA, K.; OHNO, S.; MARIKAWA, Y.; NAKAO, K.; SHIMONO, A.; SASAKI, H. Polarity-dependent distribution of angiominin localizes Hippo signaling in preimplantation embryos. **Curr Biol.** v. 23, n. 13, p. 1181-1194, 2013.

HÖFFMANN, K.; NIEMANN, H.; HADELER, K.-G.; HERRMANN, D.; WRENZYCKI, C. 247 MESSENGER RNA EXPRESSION PATTERNS OF DNA AND HISTONE METHYLTRANSFERASES IN PREIMPLANTATION DEVELOPMENT OF *IN VIVO*- AND *IN VITRO*-PRODUCED BOVINE EMBRYOS. **Reproduction, Fertility and Development.** v. 18, n. 2, p. 231-232, 2005.

HOLMES, R.; PORTER, H.; NEWCOMB, P.; HOLLY, J.; SOOTHILL, P. An immunohistochemical study of type I insulin-like growth factor receptors in the placentae of pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. **Placenta.** v. 20, n. 4, p. 325-330, 1999.

HOSSAIN, M. M.; SALILEW-WONDIM, D.; SCHELLANDER, K.; TESFAYE, D. The role of microRNAs in mammalian oocytes and embryos. **Anim Reprod Sci.** v. 134, n. 1-2, p. 36-44, 2012.

HU, S.-J.; REN, G.; LIU, J.-L.; ZHAO, Z.-A.; YU, Y.-S.; SU, R.-W.; MA, X.-H.; NI, H.; LEI, W.; YANG, Z.-M. MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation. **Journal of Biological Chemistry.** v. 283, n. 34, p. 23473-23484, 2008.

HUBBARD, E. J. A. (2011). Insulin and germline proliferation in *Caenorhabditis elegans*. *Vitamins & Hormones*, Elsevier. **87**: 61-77.

HUBBARD, S. R.; WEI, L.; HENDRICKSON, W. A. Crystal structure of the tyrosine kinase domain of the human insulin receptor. **Nature**. v. 372, n. 6508, p. 746, 1994.

HWA, V.; OH, Y.; ROSENFELD, R. G. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. **Endocrine reviews**. v. 20, n. 6, p. 761-787, 1999.

HWU, Y.-M.; CHEN, C.-P.; LI, S.-H.; CHEN, P.-W.; LEE, R. K.-K.; FLEMING, S. Expression of vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid and protein in human preimplantation embryos. **Fertility and sterility**. v. 85, n. 6, p. 1830-1832, 2006.

INAGAKI, K.; TIULPAKOV, A.; RUBTSOV, P.; SVERDLOVA, P.; PETERKOVA, V.; YAKAR, S.; TEREKHOV, S.; LEROITH, D. A familial insulin-like growth factor-I receptor mutant leads to short stature: clinical and biochemical characterization. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 92, n. 4, p. 1542-1548, 2007.

INYAWILERT, W.; FU, T.-Y.; LIN, C.-T.; TANG, P.-C. MicroRNA-199a mediates mucin 1 expression in mouse uterus during implantation. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 26, n. 5, p. 653-664, 2014.

INYAWILERT, W.; FU, T.-Y.; LIN, C.-T.; TANG, P.-C. Let-7-mediated suppression of mucin 1 expression in the mouse uterus during embryo implantation. **Journal of Reproduction and Development**. v. 61, n. 2, p. 138-144, 2015.

INZUNZA, J.; DANIELSSON, O.; LALITKUMAR, P. G.; LARSSON, O.; AXELSON, M.; TÖHÖNEN, V.; DANIELSSON, K. G.; STAVREUS-EVERS, A. Selective insulin-like growth factor-I antagonist inhibits mouse embryo development in a dose-dependent manner. **Fertility and sterility**. v. 93, n. 8, p. 2621-2626, 2010.

JACOBS, S.; KULL, F.; EARP, H. S.; SVOBODA, M.; VAN WYK, J.; CUATRECASAS, P. Somatomedin-C stimulates the phosphorylation of the beta-subunit of its own receptor. **Journal of Biological Chemistry**. v. 258, n. 16, p. 9581-9584, 1983.

JAMIESON, M.; COUTTS, J.; CONNOR, J. The chromosome constitution of human preimplantation embryos fertilized in vitro. **Human Reproduction**. v. 9, n. 4, p. 709-715, 1994.

JIAN-RONG, H.; YU-MIAN, L.; HUI-HUI, L.; GUANG-JIAN, L.; WEI-DONG, L.; XUE-JIAO, F.; XUE-LING, W.; XIAO-YAN, X.; YA-SHU, K.; XIAO-DAN, L.; NIAN-NIAN, C.; JIN-HUA, L.; QIAO-ZHU, C.; WEI-BI, M.; HUI-MIN, X.; XIU, Q. Maternal IGF1 and IGF1R polymorphisms and the risk of spontaneous preterm birth. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**. v. 31, n. 6, p. e22125, 2017.

JIANG, Q.; CHEN, S.; XING, F. Expression of epidermal growth factor receptor in human preimplantation embryos. **Zhonghua fu chan ke za zhi**. v. 35, n. 8, p. 468-469, 2000.

JIANG, Y.; SHEN, X.; LIU, H.; ZHEN, X.; SUN, H.; HU, Y.; YAN, G. (2013). Mirna-21 is a novel regulator of NUR77 and KLF12 mediated decidual prolactin expression in human endometrial stromal cells. HUMAN REPRODUCTION, OXFORD UNIV PRESS GREAT CLARENDON ST, OXFORD OX2 6DP, ENGLAND.

JOHNSON, M. H.; ZIOMEK, C. A. The foundation of two distinct cell lineages within the mouse morula. **Cell**. v. 24, n. 1, p. 71-80, 1981.

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine reviews**. v. 16, n. 1, p. 3-34, 1995.

KANG, Y.-J.; LEES, M.; MATTHEWS, L. C.; KIMBER, S. J.; FORBES, K.; APLIN, J. D. MiR-145 suppresses embryo-epithelial juxtacrine communication at implantation by modulating maternal IGF1R. **J Cell Sci**. v. n. p. jcs. 164004, 2015a.

KANG, Y. J.; LEES, M.; MATTHEWS, L. C.; KIMBER, S. J.; FORBES, K.; APLIN, J. D. MiR-145 suppresses embryo-epithelial juxtacrine communication at implantation by modulating maternal IGF1R. **J Cell Sci**. v. 128, n. 4, p. 804-814, 2015b.

KAPUR, S.; TAMADA, H.; DEY, S. K.; ANDREWS, G. K. Expression of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) and its Receptor in the Peri-Implantation Mouse Uterus, and Cell-Specific Regulation of IGF-I Gene Expression by Estradiol and Progesterone. **Biology of reproduction**. v. 46, n. 2, p. 208-219, 1992.

KAVRAN, J. M.; MCCABE, J. M.; BYRNE, P. O.; CONNACHER, M. K.; WANG, Z.; RAMEK, A.; SARABIPOUR, S.; SHAN, Y.; SHAW, D. E.; HRISTOVA, K. How IGF-1 activates its receptor. **Elife**. v. 3, n. p. e03772, 2014.

KAWAMURA, K.; CHEN, Y.; SHU, Y.; CHENG, Y.; QIAO, J.; BEHR, B.; PERA, R. A.; HSUEH, A. J. Promotion of human early embryonic development and blastocyst outgrowth in vitro using autocrine/paracrine growth factors. **PLoS One**. v. 7, n. 11, p. e49328, 2012.

KAWASHIMA, Y.; KANZAKI, S.; YANG, F.; KINOSHITA, T.; HANAKI, K.; NAGAISHI, J.-I.; OHTSUKA, Y.; HISATOME, I.; NINOMOYA, H.; NANBA, E. Mutation at cleavage site of insulin-like growth factor receptor in a short-stature child born with intrauterine growth retardation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 90, n. 8, p. 4679-4687, 2005.

KAYE, P. L. Preimplantation growth factor physiology. **Reviews of Reproduction**. v. 2, n. 2, p. 121-127, 1997.

KENNEDY, S. G.; WAGNER, A. J.; CONZEN, S. D.; JORDAN, J.; BELLACOSA, A.; TSICHLIS, P. N.; HAY, N. The PI 3-kinase/Akt signaling pathway delivers an anti-apoptotic signal. **Genes & development**. v. 11, n. 6, p. 701-713, 1997.

KIMURA, K. D.; TISSENBAUM, H. A.; LIU, Y.; RUVKUN, G. daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. **Science**. v. 277, n. 5328, p. 942-946, 1997.

KITA, N.; MITSUSHITA, J.; OHIRA, S.; TAKAGI, Y.; ASHIDA, T.; KANAI, M.; NIKAIDO, T.; KONISHI, I. Expression and activation of MAP kinases, ERK1/2, in the human villous trophoblasts. **Placenta**. v. 24, n. 2, p. 164-172, 2003.

KLAMMT, J.; KIESS, W.; PFAFFLE, R. IGF1R mutations as cause of SGA. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**. v. 25, n. 1, p. 191-206, 2011.

KLAMMT, J.; PFAFFLE, R.; WERNER, H.; KIESS, W. IGF signaling defects as causes of growth failure and IUGR. **Trends Endocrinol Metab**. v. 19, n. 6, p. 197-205, 2008.

KLEFFENS, M.; GROFFEN, C.; NECK, J. W.; VERMEIJ-KEERS, C.; DROP, S. L. mRNA and protein localization of the IGF system during mouse embryonic development in areas with apoptosis. **Growth Horm IGF Res**. v. 9, n. 3, p. 195-204, 1999.

KOLER, M.; ACHACHE, H.; TSAFRIR, A.; SMITH, Y.; REVEL, A.; REICH, R. Disrupted gene pattern in patients with repeated in vitro fertilization (IVF) failure. **Hum Reprod**. v. 24, n. 10, p. 2541-2548, 2009.

KRAWCZAK, M.; BALL, E. V.; FENTON, I.; STENSON, P. D.; ABEYSINGHE, S.; THOMAS, N.; COOPER, D. N. Human gene mutation database—a biomedical information and research resource. **Human mutation**. v. 15, n. 1, p. 45-51, 2000.

KROPP, J.; SALIH, S. M.; KHATIB, H. Expression of microRNAs in bovine and human pre-implantation embryo culture media. **Front Genet**. v. 5, n. p. 91, 2014.

KRÜSSEL, J.-S.; BEHR, B.; HIRCHENHAIN, J.; WEN, Y.; MILKI, A. A.; CUPISTI, S.; BIELFELD, P.; POLAN, M. L. Expression of vascular endothelial growth factor mRNA in human preimplantation embryos derived from tripronuclear zygotes. **Fertility and sterility**. v. 74, n. 6, p. 1220-1226, 2000.

KRÜSSEL, J. S.; BEHR, B.; MILKI, A. A.; HIRCHENHAIN, J.; WEN, Y.; BIELFELD, P.; POLAN, M. L. Vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA splice variants are differentially expressed in human blastocysts. **Molecular human reproduction**. v. 7, n. 1, p. 57-63, 2001.

KULIK, G.; KLIPPEL, A.; WEBER, M. J. Antiapoptotic signalling by the insulin-like growth factor I receptor, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt. **Molecular and cellular biology**. v. 17, n. 3, p. 1595-1606, 1997.

KUOKKANEN, S.; CHEN, B.; OJALVO, L.; BENARD, L.; SANTORO, N.; POLLARD, J. W. Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. **Biol Reprod**. v. 82, n. 4, p. 791-801, 2010.

LAMMERS, R.; GRAY, A.; SCHLESSINGER, J.; ULLRICH, A. Differential signalling potential of insulin-and IGF-1-receptor cytoplasmic domains. **The EMBO journal**. v. 8, n. 5, p. 1369-1375, 1989.



LAU, N. C.; LIM, L. P.; WEINSTEIN, E. G.; BARTEL, D. P. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. **Science**. v. 294, n. 5543, p. 858-862, 2001.

LAVIOLA, L.; PERRINI, S.; BELSANTI, G.; NATALICCHIO, A.; MONTRONE, C.; LEONARDINI, A.; VIMERCATI, A.; SCIOSCIA, M.; SELVAGGI, L.; GIORGINO, R.; GRECO, P.; GIORGINO, F. Intrauterine growth restriction in humans is associated with abnormalities in placental insulin-like growth factor signaling. **Endocrinology**. v. 146, n. 3, p. 1498-1505, 2005.

LE ROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR, S.; LIU, J. L.; BUTLER, A. The somatomedin hypothesis: 2001. **Endocr Rev**. v. 22, n. 1, p. 53-74, 2001.

LEDEE-BATAILLE, N.; LAPREE-DELAGE, G.; TAUPIN, J.-L.; DUBANCHET, S.; FRYDMAN, R.; CHAOUAT, G. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. **Human Reproduction**. v. 17, n. 1, p. 213-218, 2002.

LEE, J.-E.; CHOI, J. H.; LEE, J. H.; LEE, M. G. Gene SNPs and mutations in clinical genetic testing: haplotype-based testing and analysis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**. v. 573, n. 1, p. 195-204, 2005.

LEESE, H. J. Quiet please, do not disturb: a hypothesis of embryo metabolism and viability. **Bioessays**. v. 24, n. 9, p. 845-849, 2002.

LEK, M.; KARCZEWSKI, K. J.; MINIKEL, E. V.; SAMOCHA, K. E.; BANKS, E.; FENNEL, T.; O'DONNELL-LURIA, A. H.; WARE, J. S.; HILL, A. J.; CUMMINGS, B. B. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. **Nature**. v. 536, n. 7616, p. 285, 2016.

LERI, A.; LIU, Y.; WANG, X.; KAJSTURA, J.; MALHOTRA, A.; MEGGS, L. G.; ANVERSA, P. Overexpression of insulin-like growth factor-1 attenuates the myocyte renin-angiotensin system in transgenic mice. **Circulation research**. v. 84, n. 7, p. 752-762, 1999.

LE ROITH, D.; ROBERTS JR, C. T. The insulin-like growth factor system and cancer. **Cancer letters**. v. 195, n. 2, p. 127-137, 2003.

LE ROITH, D.; WERNER, H.; BEITNER-JOHNSON, D.; ROBERTS JR, C. T. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. **Endocrine reviews**. v. 16, n. 2, p. 143-163, 1995.

LI, R.; HE, J.; CHEN, X.; DING, Y.; WANG, Y.; LONG, C.; SHEN, L.; LIU, X. Mmu-miR-193 is involved in embryo implantation in mouse uterus by regulating GRB7 gene expression. **Reproductive Sciences**. v. 21, n. 6, p. 733-742, 2014.

LI, Z.; GOU, J.; JIA, J.; ZHAO, X. MicroRNA-429 functions as a regulator of epithelial-mesenchymal transition by targeting Pcdh8 during murine embryo implantation. **Human reproduction**. v. 30, n. 3, p. 507-518, 2015a.

LI, Z.; JIA, J.; GOU, J.; ZHAO, X.; YI, T. MicroRNA-451 plays a role in murine embryo implantation through targeting Ankrd46, as implicated by a microarray-based analysis. **Fertility and sterility**. v. 103, n. 3, p. 834-844. e834, 2015b.

LIGHTEN, A. D.; HARDY, K.; WINSTON, R. M.; MOORE, G. E. Expression of mRNA for the insulin-like growth factors and their receptors in human preimplantation embryos. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research**. v. 47, n. 2, p. 134-139, 1997a.

LIGHTEN, A. D.; HARDY, K.; WINSTON, R. M.; MOORE, G. E. IGF2 is parentally imprinted in human preimplantation embryos. **Nature genetics**. v. 15, n. 2, p. 122, 1997b.

LIGHTEN, A. D.; MOORE, G. E.; WINSTON, R.; HARDY, K. Routine addition of human insulin-like growth factor-I ligand could benefit clinical in-vitro fertilization culture. **Human reproduction (Oxford, England)**. v. 13, n. 11, p. 3144-3150, 1998.

LIM, L. P.; GLASNER, M. E.; YEKTA, S.; BURGE, C. B.; BARTEL, D. P. Vertebrate microRNA genes. **Science**. v. 299, n. 5612, p. 1540, 2003.

LIM, L. P.; LAU, N. C.; GARRETT-ENGELE, P.; GRIMSON, A.; SCHELTER, J. M.; CASTLE, J.; BARTEL, D. P.; LINSLEY, P. S.; JOHNSON, J. M. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. **Nature**. v. 433, n. 7027, p. 769-773, 2005.

LIN, T.-C.; YEN, J.-M.; GONG, K.-B.; HSU, T.-T.; CHEN, L.-R. IGF-1/IGFBP-1 increases blastocyst formation and total blastocyst cell number in mouse embryo culture and facilitates the establishment of a stem-cell line. **BMC Cell Biology**. v. 4, n. 1, p. 14, 2003.

LIU, H.-C.; HE, Z.-Y.; TANG, Y.-X.; MELE, C. A.; VEECK, L. L.; DAVIS, O.; ROSENWAKS, Z. Simultaneous detection of multiple gene expression in mouse and human individual preimplantation embryos. **Fertility and sterility**. v. 67, n. 4, p. 733-741, 1997a.

LIU, H. C.; HE, Z. Y.; MELE, C. A.; VEECK, L. L.; DAVIS, O. K.; ROSENWAKS, Z. Expression of IGFs and their receptors is a potential marker for embryo quality. **American Journal of Reproductive Immunology**. v. 38, n. 4, p. 237-245, 1997b.

LIU, J.-P.; BAKER, J.; PERKINS, A. S.; ROBERTSON, E. J.; EFSTRATIADIS, A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). **Cell**. v. 75, n. 1, p. 59-72, 1993.

LIU, W.-M.; PANG, R. T.; CHEONG, A. W.; NG, E. H.; LAO, K.; LEE, K.-F.; YEUNG, W. S. Involvement of microRNA lethal-7a in the regulation of embryo implantation in mice. **PloS one**. v. 7, n. 5, p. e37039, 2012.

LIU, W.; NIU, Z.; LI, Q.; PANG, R. T.; CHIU, P. C.; YEUNG, W. S. MicroRNA and Embryo Implantation. **Am J Reprod Immunol**. v. 75, n. 3, p. 263-271, 2016.

LIU, X.; GAO, R.; CHEN, X.; ZHANG, H.; ZHENG, A.; YANG, D.; DING, Y.; WANG, Y.; HE, J. Possible roles of mmu-miR-141 in the endometrium of mice in early pregnancy following embryo implantation. **PLoS One**. v. 8, n. 6, p. e67382, 2013.

LOUVI, A.; ACCILI, D.; EFSTRATIADIS, A. Growth-promoting interaction of IGF-II with the insulin receptor during mouse embryonic development. **Developmental biology**. v. 189, n. 1, p. 33-48, 1997.

MACKLON, N. S.; GERAEDTS, J. P.; FAUSER, B. C. Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss. **Human reproduction update**. v. 8, n. 4, p. 333-343, 2002.

MACKLON, N. S.; STOUFFER, R. L.; GIUDICE, L. C.; FAUSER, B. C. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. **Endocrine reviews**. v. 27, n. 2, p. 170-207, 2006.

MAILE, L. A.; CLEMMONS, D. R. Regulation of insulin-like growth factor-I receptor dephosphorylation by SHPS-1 and the tyrosine phosphatase SHP-2. **Journal of Biological Chemistry**. v. n. p. 2002.

MAITRE, J. L. Mechanics of blastocyst morphogenesis. **Biol Cell**. v. 109, n. 9, p. 323-338, 2017.

MANNING, B. D.; CANTLEY, L. C. AKT/PKB signaling: navigating downstream. **Cell**. v. 129, n. 7, p. 1261-1274, 2007.

MARGALIOTH, E.; BEN-CHETRIT, A.; GAL, M.; ELDAR-GEVA, T. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. **Human reproduction**. v. 21, n. 12, p. 3036-3043, 2006.

MARTIN, K.; BARLOW, D.; SARGENT, I. Heparin-binding epidermal growth factor significantly improves human blastocyst development and hatching in serum-free medium. **Human reproduction (Oxford, England)**. v. 13, n. 6, p. 1645-1652, 1998.

MARUO, T.; MURATA, K.; MATSUO, H.; SAMOTO, T.; MOCHIZUKI, M. Insulin-like growth factor-I as a local regulator of proliferation and differentiated function of the human trophoblast in early pregnancy. **Early pregnancy: biology and medicine: the official journal of the Society for the Investigation of Early Pregnancy**. v. 1, n. 1, p. 54-61, 1995.

MILLER, P. B.; PARNELL, B. A.; BUSHNELL, G.; TALLMAN, N.; FORSTEIN, D. A.; HIGDON III, H. L.; KITAWAKI, J.; LESSEY, B. A. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. **Human Reproduction**. v. 27, n. 3, p. 881-888, 2012.

MINSHALL, C.; ARKINS, S.; FREUND, G. G.; KELLEY, K. W. Requirement for phosphatidylinositol 3'-kinase to protect hemopoietic progenitors against apoptosis depends upon the extracellular survival factor. **The Journal of Immunology**. v. 156, n. 3, p. 939-947, 1996.

MONDOU, E.; DUFORT, I.; GOHIN, M.; FOURNIER, E.; SIRARD, M. A. Analysis of microRNAs and their precursors in bovine early embryonic development. **Mol Hum Reprod.** v. 18, n. 9, p. 425-434, 2012.

MOOR, R.; DAI, Y.; LEE, C.; FULKA JR, J. Oocyte maturation and embryonic failure. **Human Reproduction Update.** v. 4, n. 3, p. 223-226, 1998.

MORENO-MOYA, J. M.; VILELLA, F.; MARTÍNEZ, S.; PELLICER, A.; SIMÓN, C. The transcriptomic and proteomic effects of ectopic overexpression of miR-30d in human endometrial epithelial cells. **Molecular human reproduction.** v. 20, n. 6, p. 550-566, 2014.

MORITA, Y.; MANGANARO, T. F.; TAO, X.-J.; MARTIMBEAU, S.; DONAHOE, P. K.; TILLY, J. L. Requirement for phosphatidylinositol-3'-kinase in cytokine-mediated germ cell survival during fetal oogenesis in the mouse. **Endocrinology.** v. 140, n. 2, p. 941-949, 1999.

MORRIS, S. A.; TEO, R. T. Y.; LI, H.; ROBSON, P.; GLOVER, D. M.; ZERNICKA-GOETZ, M. Origin and formation of the first two distinct cell types of the inner cell mass in the mouse embryo. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** v. 107, n. 14, p. 6364-6369, 2010.

MUNNÉ, S.; ALIKANI, M.; TOMKIN, G.; GRIFO, J.; COHEN, J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. **Fertility and sterility.** v. 64, n. 2, p. 382-391, 1995.

MYERS JR, M.; SUN, X. J.; CHEATHAM, B.; JACHNA, B. R.; GLASHEEN, E. M.; BACKER, J. M.; WHITE, M. F. IRS-1 is a common element in insulin and insulin-like growth factor-I signaling to the phosphatidylinositol 3'-kinase. **Endocrinology.** v. 132, n. 4, p. 1421-1430, 1993.

NAKAE, J.; KIDO, Y.; ACCILI, D. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-I receptors. **Endocrine reviews.** v. 22, n. 6, p. 818-835, 2001.

NETCHINE, I.; AZZI, S.; LE BOUC, Y.; SAVAGE, M. O. IGF1 molecular anomalies demonstrate its critical role in fetal, postnatal growth and brain development. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.** v. 25, n. 1, p. 181-190, 2011.

NETCHINE, I. N.; AZZI, S.; HOUANG, M.; SEURIN, D.; PERIN, L.; RICORT, J.-M.; DAUBAS, C.; LEGAY, C.; MESTER, J.; HERICH, R. Partial primary deficiency of insulin-like growth factor (IGF)-I activity associated with IGF1 mutation demonstrates its critical role in growth and brain development. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.** v. 94, n. 10, p. 3913-3921, 2009.

NEUENSCHWANDER, S.; SCHWARTZ, A.; WOOD, T. L.; ROBERTS, C. T.; HENNIGHAUSEN, L.; LEROITH, D. Involution of the lactating mammary gland is inhibited by the IGF system in a transgenic mouse model. **The Journal of clinical investigation.** v. 97, n. 10, p. 2225-2232, 1996.

NIAKAN, K. K.; HAN, J.; PEDERSEN, R. A.; SIMON, C.; PERA, R. A. Human pre-implantation embryo development. **Development**. v. 139, n. 5, p. 829-841, 2012.

NISSLEY, P.; LOPACZYNSKI, W. Insulin-Like Growth Factor Receptors. **Growth Factors**. v. 5, n. 1, p. 29-43, 1991.

NORWITZ, E. R.; SCHUST, D. J.; FISHER, S. J. Implantation and the survival of early pregnancy. **N Engl J Med**. v. 345, n. 19, p. 1400-1408, 2001.

O'NEILL, C.; LI, Y.; JIN, X. Survival signaling in the preimplantation embryo. **Theriogenology**. v. 77, n. 4, p. 773-784, 2012.

OKA, Y.; ROZEK, L.; CZECH, M. Direct demonstration of rapid insulin-like growth factor II Receptor internalization and recycling in rat adipocytes. Insulin stimulates 125I-insulin-like growth factor II degradation by modulating the IGF-II receptor recycling process. **Journal of Biological Chemistry**. v. 260, n. 16, p. 9435-9442, 1985.

**OMIM.** Disponível em: <https://www.omim.org/entry/147370?search=igf1r&highlight=igf1r#cytogenetics>. Data acessada:

ORON, E.; IVANOVA, N. Cell fate regulation in early mammalian development. **Phys Biol**. v. 9, n. 4, p. 045002, 2012.

ÖSTERLUND, C.; WRAMSBY, H.; POUSETTE, Å. Preimplantation embryology: Temporal expression of platelet-derived growth factor (PDGF)-A and its receptor in human preimplantation embryos. **MHR: Basic science of reproductive medicine**. v. 2, n. 7, p. 507-512, 1996.

OUELLET, D. L.; PERRON, M. P.; GOBEIL, L.-A.; PLANTE, P.; PROVOST, P. MicroRNAs in gene regulation: when the smallest governs it all. **Journal of biomedicine & biotechnology**. v. 2006, n. 4, p. 69616-69616, 2006.

PAN, H.; HANADA, S.; ZHAO, J.; MAO, L.; MA, M. Z.-Q. Protein secretion is required for pregnancy-associated plasma protein-A to promote lung cancer growth in vivo. **PLoS one**. v. 7, n. 11, p. e48799, 2012.

PANDEY, A.; SINGH, N.; GUPTA, S. C.; RANA, J. S.; GUPTA, N. Relative expression of cell growth regulatory genes insulin-like growth factors (IGF-1 and IGF-2) and their receptors (IGF-1R and IGF-2R) in somatic cell nuclear transferred (SCNT) and in vitro fertilized (IVF) pre-implantation buffalo embryos. **Cell Biol Int**. v. 33, n. 5, p. 555-564, 2009.

PARIA, B.; REESE, J.; DAS, S. K.; DEY, S. Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. **Science**. v. 296, n. 5576, p. 2185-2188, 2002.

PARIA, B. C.; MA, W.-G.; TAN, J.; RAJA, S.; DAS, S. K.; DEY, S. K.; HOGAN, B. L. Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited

by locally applied growth factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 98, n. 3, p. 1047-1052, 2001.

PASHMFOROUSH, M.; CHAN, S. J.; STEINER, D. F. Structure and expression of the insulin-like peptide receptor from amphioxus. **Molecular Endocrinology**. v. 10, n. 7, p. 857-866, 1996.

PATTON, J.; KENNY, D.; MCNAMARA, S.; MEE, J.; O'MARA, F.; DISKIN, M.; MURPHY, J. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**. v. 90, n. 2, p. 649-658, 2007.

PERUZZI, F.; PRISCO, M.; DEWS, M.; SALOMONI, P.; GRASSILLI, E.; ROMANO, G.; CALABRETTA, B.; BASERGA, R. Multiple signaling pathways of the insulin-like growth factor 1 receptor in protection from apoptosis. **Molecular and cellular biology**. v. 19, n. 10, p. 7203-7215, 1999.

PETRIK, J.; PELL, J.; ARANY, E.; MCDONALD, T.; DEAN, W.; REIK, W.; HILL, D. Overexpression of insulin-like growth factor-II in transgenic mice is associated with pancreatic islet cell hyperplasia. **Endocrinology**. v. 140, n. 5, p. 2353-2363, 1999.

PILMANE, M.; FODINA, V. METABOLISM AND GROWTH FACTORS IN EARLY EMBRYOGENESIS OF INVALID FOR IMPLANTATION OBTAINED IN VITRO FERTILIZATION (IVF) HUMAN EMBRYOS. **Papers on Anthropology**. v. 19, n. p. 279-291, 2010.

PLACHOT, M.; JUNCA, A.; MANDELBAUM, J.; TURLEAU, C.; COUILLIN, P.; COHEN, J.; SALAT-BAROUX, J. (1987). From oocyte to embryo: a model, deduced from in vitro fertilization, for natural selection against chromosome abnormalities. *Annales de genetique*.

POLLAK, M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. **Nature Reviews Cancer**. v. 8, n. 12, p. 915, 2008.

POLLAK, M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. **Nature Reviews Cancer**. v. 12, n. 3, p. 159, 2012.

POUYSSÉGUR, J.; VOLMAT, V.; LENORMAND, P. Fidelity and spatio-temporal control in MAP kinase (ERKs) signalling. **Biochemical pharmacology**. v. 64, n. 5-6, p. 755-763, 2002.

PROKUNINA, L.; ALARCÓN-RIQUELME, M. E. Regulatory SNPs in complex diseases: their identification and functional validation. **Expert reviews in molecular medicine**. v. 6, n. 10, p. 1-15, 2004.

PRONTERA, P.; MICALE, L.; VERROTTI, A.; NAPOLIONI, V.; STANGONI, G.; MERLA, G. A New Homozygous IGF1R Variant Defines a Clinically Recognizable Incomplete Dominant form of SHORT Syndrome. **Hum Mutat**. v. 36, n. 11, p. 1043-1047, 2015.

PSYCHOYOS, A. Hormonal control of ovoimplantation. **Vitam Horm.** v. 31, n. p. 201-256, 1973.

QIAN, D.; LIN, H. Y.; WANG, H. M.; ZHANG, X.; LIU, D. L.; LI, Q. L.; ZHU, C. Involvement of ERK1/2 pathway in TGF- $\beta$ 1-induced VEGF secretion in normal human cytotrophoblast cells. **Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research.** v. 68, n. 2, p. 198-204, 2004.

QU, C.-K. Role of the SHP-2 tyrosine phosphatase in cytokine-induced signaling and cellular response. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.** v. 1592, n. 3, p. 297-301, 2002.

RAMENSKY, V.; BORK, P.; SUNYAEV, S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. **Nucleic acids research.** v. 30, n. 17, p. 3894-3900, 2002.

REBOURCET, R.; CEUNINCK, F. D.; DEBORDE, S.; WILLEPUT, J.; FERRÉ, F. Differential distribution of binding sites for <sup>125</sup>I-insulin-like growth factor II on trophoblast membranes of human term placenta. **Biology of reproduction.** v. 58, n. 1, p. 37-44, 1998.

RECHLER, M. M.; NISSLEY, S. P. The nature and regulation of the receptors for insulin-like growth factors. **Annual Review of Physiology.** v. 47, n. 1, p. 425-442, 1985.

REGELA, A. A.; HEGAB, A.; HASSAN, S.; MANDOUR, D. ROLE OF INSULIN GROWTH FACTORS (IGFS) IN MAMMALIAN BLASTOCYST DEVELOPMENT. v. n. p. 2015.

REIJO PERA, R. A.; DEJONGE, C.; BOSSERT, N.; YAO, M.; HWA YANG, J. Y.; ASADI, N. B.; WONG, W.; WONG, C.; FIRPO, M. T. Gene expression profiles of human inner cell mass cells and embryonic stem cells. **Differentiation.** v. 78, n. 1, p. 18-23, 2009.

REVEL, A.; ACHACHE, H.; STEVENS, J.; SMITH, Y.; REICH, R. MicroRNAs are associated with human embryo implantation defects. **Hum Reprod.** v. 26, n. 10, p. 2830-2840, 2011a.

REVEL, A.; ACHACHE, H.; STEVENS, J.; SMITH, Y.; REICH, R. MicroRNAs are associated with human embryo implantation defects. **Human reproduction.** v. 26, n. 10, p. 2830-2840, 2011b.

RODRIGUEZ-TARDUCHY, G.; COLLINS, M.; GARCIA, I.; LOPEZ-RIVAS, A. Insulin-like growth factor-I inhibits apoptosis in IL-3-dependent hemopoietic cells. **The Journal of Immunology.** v. 149, n. 2, p. 535-540, 1992.

ROLDAN, M. B.; WHITE, C.; WITCHEL, S. F. Association of the GAA1013→ GAG polymorphism of the insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) gene with premature pubarche. **Fertility and sterility.** v. 88, n. 2, p. 410-417, 2007.

ROOVERS, E.; VINCENT, M. E.; VAN KESTEREN, E.; GERAERTS, W. P.; PLANTA, R. J.; VREUGDENHIL, E.; VAN HEERIKHUIZEN, H. Characterization of a putative molluscan insulin-related peptide receptor. **Gene**. v. 162, n. 2, p. 181-188, 1995.

ROTWEIN, P. Structure, evolution, expression and regulation of insulin-like growth factors I and II. **Growth factors**. v. 5, n. 1, p. 3-18, 1991.

ROTWEIN, P. Large-scale analysis of variation in the insulin-like growth factor family in humans reveals rare disease links and common polymorphisms. **J Biol Chem**. v. 292, n. 22, p. 9252-9261, 2017.

RUAN, Y.; CHEN, C.; CAO, Y.; GAROFALO, R. S. The *Drosophila* insulin receptor contains a novel carboxyl-terminal extension likely to play an important role in signal transduction. **Journal of Biological Chemistry**. v. 270, n. 9, p. 4236-4243, 1995.

RUBIN, J. B.; SHIA, M. A.; PILCH, P. F. Stimulation of tyrosine-specific phosphorylation in vitro by insulin-like growth factor I. **Nature**. v. 305, n. 5933, p. 438, 1983.

SALAMONSEN, L. A.; SHUSTER, S.; STERN, R. Distribution of hyaluronan in human endometrium across the menstrual cycle. **Cell and tissue research**. v. 306, n. 2, p. 335-340, 2001.

SALMON, W. D.; DAUGHADAY, W. H. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. **The Journal of laboratory and clinical medicine**. v. 49, n. 6, p. 825-836, 1957.

SARFSTEIN, R.; PASMANIK-CHOR, M.; YEHESEKEL, A.; EDRY, L.; SHOMRON, N.; WARMAN, N.; WERTHEIMER, E.; MAOR, S.; SHOCHAT, L.; WERNER, H. Insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) translocates to nucleus and autoregulates IGF-IR gene expression in breast cancer cells. **Journal of Biological Chemistry**. v. 287, n. 4, p. 2766-2776, 2012.

SAVAGE, M. O.; BURREN, C. P.; ROSENFELD, R. G. The continuum of growth hormone-IGF-I axis defects causing short stature: diagnostic and therapeutic challenges. **Clinical endocrinology**. v. 72, n. 6, p. 721-728, 2010.

SCAVO, L. M.; SERRANO, J.; ROTH, J.; DE PABLO, F. Genes for the insulin receptor and the insulin-like growth factor I receptor are expressed in the chicken embryo blastoderm and throughout organogenesis. **Biochemical and biophysical research communications**. v. 176, n. 3, p. 1393-1401, 1991.

SCHORK, N. J.; FALLIN, D.; LANCHBURY, J. S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. **Clinical genetics**. v. 58, n. 4, p. 250-264, 2000.

SCOTT, C. D.; KIESS, W. Soluble M6P/IGFIIR in the circulation. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 29, n. 5, p. 723-733, 2015.



SELL, C.; BASERGA, R.; RUBIN, R. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and the IGF-I receptor prevent etoposide-induced apoptosis. **Cancer Research**. v. 55, n. 2, p. 303-306, 1995.

SHEN, L.-J.; HE, J.-L.; YANG, D.-H.; DING, Y.-B.; CHEN, X.-M.; GENG, Y.-Q.; LIU, S.-J.; LIU, X.-Q.; WANG, Y.-X. Mmu-microRNA-200a overexpression leads to implantation defect by targeting phosphatase and tensin homolog in mouse uterus. **Reproductive Sciences**. v. 20, n. 12, p. 1518-1528, 2013.

SHEN, W.; WISNIOWSKI, P.; AHMED, L.; BOYLE, D. W.; DENNE, S. C.; LIECHTY, E. A. Protein anabolic effects of insulin and IGF-I in the ovine fetus. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**. v. 284, n. 4, p. E748-E756, 2003.

SHERRY, S. T.; WARD, M.-H.; KHOLODOV, M.; BAKER, J.; PHAN, L.; SMIGIELSKI, E. M.; SIROTKIN, K. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. **Nucleic acids research**. v. 29, n. 1, p. 308-311, 2001.

SHIH-YIN, H.; CHI-HSIN, C.; FANG-PING, C.; CHIA-LI, Y. The alteration of placental-derived soluble MHC class I chain-related protein A and B during pregnancy. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**. v. 90, n. 7, p. 802-807, 2011.

SHIRDEL, E. A.; XIE, W.; MAK, T. W.; JURISICA, I. NAViGaTing the Micronome – Using Multiple MicroRNA Prediction Databases to Identify Signalling Pathway-Associated MicroRNAs. **PLOS ONE**. v. 6, n. 2, p. e17429, 2011.

SIEBLER, T.; LOPACZYNSKI, W.; TERRY, C. L.; CASELLA, S.; MUNSON, P.; DE LEON, D. D.; PHANG, L.; BLAKEMORE, K.; MCEVOY, R.; KELLEY, R. Insulin-like growth factor I receptor expression and function in fibroblasts from two patients with deletion of the distal long arm of chromosome 15. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 80, n. 12, p. 3447-3457, 1995.

SIMON, C.; MERCADER, A.; GARCIA-VELASCO, J.; NIKAS, G.; MORENO, C.; REMOHI, J.; PELLICER, A. Coculture of human embryos with autologous human endometrial epithelial cells in patients with implantation failure. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 84, n. 8, p. 2638-2646, 1999.

SIMON, C.; VALBUENA, D. Embryonic implantation. **Annales d'Endocrinologie** v. 60, n. p. 134-136, 1999.

SIROHI, V. K.; GUPTA, K.; KUMAR, R.; SHUKLA, V.; DWIVEDI, A. Selective estrogen receptor modulator ormeloxifene suppresses embryo implantation via inducing miR-140 and targeting insulin-like growth factor 1 receptor in rat uterus. **J Steroid Biochem Mol Biol**. v. 178, n. p. 272-282, 2018.

SJÖBLOM, C.; WIKLAND, M.; ROBERTSON, S. Granulocyte–macrophage colony-stimulating factor promotes human blastocyst development in vitro. **Human Reproduction**. v. 14, n. 12, p. 3069-3076, 1999.

SJÖBLOM, C.; WIKLAND, M.; ROBERTSON, S. A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) acts independently of the beta common subunit of the

GM-CSF receptor to prevent inner cell mass apoptosis in human embryos. **Biology of reproduction**. v. 67, n. 6, p. 1817-1823, 2002.

SLATER, M.; MURPHY, C. R. Differential expression of insulin-like growth factors in the uterine epithelium and extracellular matrix during early pregnancy. **Matrix Biology**. v. 18, n. 6, p. 579-584, 1999.

SMERIERI, A.; PETRAROLI, M.; ZIVERI, M. A.; VOLTA, C.; BERNASCONI, S.; STREET, M. E. Effects of cord serum insulin, IGF-II, IGFBP-2, IL-6 and cortisol concentrations on human birth weight and length: pilot study. **PLoS One**. v. 6, n. 12, p. e29562, 2011.

SMOTRICH, D. B.; STILLMAN, R. J.; WIDRA, E. A.; GINDOFF, P. R.; KAPLAN, P.; GRAUBERT, M.; JOHNSON, K. E. Immunocytochemical localization of growth factors and their receptors in human pre-embryos and Fallopian tubes. **Human reproduction**. v. 11, n. 1, p. 184-190, 1996.

SOLOMON-ZEMLER, R.; SARFSTEIN, R.; WERNER, H. Nuclear insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) displays proliferative and regulatory activities in non-malignant cells. **PLoS One**. v. 12, n. 9, p. e0185164, 2017.

SONG, L.; TUAN, R. S. MicroRNAs and cell differentiation in mammalian development. **Birth Defects Res C Embryo Today**. v. 78, n. 2, p. 140-149, 2006.

SOOS, M. A.; WHITTAKER, J.; LAMMERS, R.; ULLRICH, A.; SIDDLE, K. Receptors for insulin and insulin-like growth factor-I can form hybrid dimers. Characterisation of hybrid receptors in transfected cells. **Biochemical Journal**. v. 270, n. 2, p. 383-390, 1990.

SPANOS, S.; BECKER, D. L.; WINSTON, R. M.; HARDY, K. Anti-apoptotic action of insulin-like growth factor-I during human preimplantation embryo development. **Biology of Reproduction**. v. 63, n. 5, p. 1413-1420, 2000.

SPARROW, L. G.; MCKERN, N. M.; GORMAN, J. J.; STRIKE, P. M.; ROBINSON, C. P.; BENTLEY, J. D.; WARD, C. W. The disulfide bonds in the C-terminal domains of the human insulin receptor ectodomain. **Journal of Biological Chemistry**. v. 272, n. 47, p. 29460-29467, 1997.

STEELE, R.; LIEU, P.; MAI, N. H.; SHENK, M. A.; SARRAS JR, M. P. Response to insulin and the expression pattern of a gene encoding an insulin receptor homologue suggest a role for an insulin-like molecule in regulating growth and patterning in Hydra. **Development genes and evolution**. v. 206, n. 4, p. 247-259, 1996.

STELLER, M. A.; ZOU, Z.; SCHILLER, J. T.; BASERGA, R. Transformation by human papillomavirus 16 E6 and E7: role of the insulin-like growth factor 1 receptor. **Cancer research**. v. 56, n. 21, p. 5087-5091, 1996.

STENSON, P. D.; MORT, M.; BALL, E. V.; HOWELLS, K.; PHILLIPS, A. D.; THOMAS, N. S.; COOPER, D. N. The human gene mutation database: 2008 update. **Genome medicine**. v. 1, n. 1, p. 13, 2009.

STEPHENSON, R. O.; YAMANAKA, Y.; ROSSANT, J. Disorganized epithelial polarity and excess trophectoderm cell fate in preimplantation embryos lacking E-cadherin. **Development**. v. 137, n. 20, p. 3383-3391, 2010.

STEWART, C. L.; KASPAR, P.; BRUNET, L. J.; BHATT, H.; GADI, I.; KÖNTGEN, F.; ABBONDANZO, S. J. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. **Nature**. v. 359, n. 6390, p. 76, 1992.

TABIBZADEH, S.; BABAKNIA, A. The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. **Hum Reprod**. v. 10, n. 6, p. 1579-1602, 1995.

TABIBZADEH, S. S.; MORTILLO, S.; GERBER, M. A. Immunoultrastructural localization of Ia antigens in human endometrium. **Arch Pathol Lab Med**. v. 111, n. 1, p. 32-37, 1987.

TANG, D.; HUANG, Y.; LIU, W.; ZHANG, X. Up-Regulation of microRNA-210 is Associated with Spermatogenesis by Targeting IGF2 in Male Infertility. **Medical Science Monitor**. v. 22, n. p. 2905-2910, 2016.

TANG, F.; KANEDA, M.; O'CARROLL, D.; HAJKOVA, P.; BARTON, S. C.; SUN, Y. A.; LEE, C.; TARAKHOVSKY, A.; LAO, K.; SURANI, M. A. Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. **Genes Dev**. v. 21, n. 6, p. 644-648, 2007.

TAYLOR, D. M.; RAY, P. F.; AO, A.; WINSTON, R. M.; HANDYSIDE, A. H. Paternal transcripts for glucose-6-phosphate dehydrogenase and adenosine deaminase are first detectable in the human preimplantation embryo at the three- to four-cell stage. **Mol Reprod Dev**. v. 48, n. 4, p. 442-448, 1997.

TESARIK, J.; KOPECNY, V.; PLACHOT, M.; MANDELBAUM, J. High-resolution autoradiographic localization of DNA-containing sites and RNA synthesis in developing nucleoli of human preimplantation embryos: a new concept of embryonic nucleogenesis. **Development**. v. 101, n. 4, p. 777-791, 1987.

TESFAYE, D.; WORKU, D.; RINGS, F.; PHATSARA, C.; THOLEN, E.; SCHELLANDER, K.; HOELKER, M. Identification and expression profiling of microRNAs during bovine oocyte maturation using heterologous approach. **Mol Reprod Dev**. v. 76, n. 7, p. 665-677, 2009.

THOUAS, G. A.; DOMINGUEZ, F.; GREEN, M. P.; VILELLA, F.; SIMON, C.; GARDNER, D. K. Soluble ligands and their receptors in human embryo development and implantation. **Endocr Rev**. v. 36, n. 1, p. 92-130, 2015.

TIAN, S.; SU, X.; QI, L.; JIN, X.-H.; HU, Y.; WANG, C.-L.; MA, X.; XIA, H.-F. MiR-143 and rat embryo implantation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**. v. 1850, n. 4, p. 708-721, 2015.

TOCHIGI, H.; KAJIHARA, T.; YOSUKE, M.; TAMARU, S.; KAMEI, Y.; OKAZAKI, Y.; ISHIHARA, O. MicroRNAs and their target genes related to endometrial decidualization. **Placenta**. v. 35, n. 10, p. A13, 2014.

TOKAR, T.; PASTRELLO, C.; ROSSOS, A. E. M.; ABOVSKY, M.; HAUSCHILD, A. C.; TSAY, M.; LU, R.; JURISICA, I. mirDIP 4.1-integrative database of human microRNA target predictions. **Nucleic Acids Res.** v. 46, n. D1, p. D360-d370, 2018.

TRONCOSO, C.; BOSCH, E.; RUBIO, C.; REMOHÍ, J.; SIMÓN, C.; PELLICER, A. The origin of biochemical pregnancies: lessons learned from preimplantation genetic diagnosis. **Fertility and sterility**. v. 79, n. 2, p. 449-450, 2003.

ULLRICH, A.; BELL, J.; CHEN, E. Y.; HERRERA, R.; PETRUZZELLI, L.; DULL, T. J.; GRAY, A.; COUSSENS, L.; LIAO, Y.-C.; TSUBOKAWA, M. Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. **Nature**. v. 313, n. 6005, p. 756, 1985.

ULLRICH, A.; GRAY, A.; TAM, A. W.; YANG-FENG, T.; TSUBOKAWA, M.; COLLINS, C.; HENZEL, W.; LE BON, T.; KATHURIA, S.; CHEN, E. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. **The EMBO journal**. v. 5, n. 10, p. 2503-2512, 1986.

VAN DUYNENVOORDE, H.; VAN SETTEN, P.; WALENKAMP, M.; VAN DOORN, J.; KOENIG, J.; GAUGUIN, L.; OOSTDIJK, W.; RUIVENKAMP, C.; LOSEKOOT, M.; WADE, J. Short stature associated with a novel heterozygous mutation in the insulin-like growth factor 1 gene. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 95, n. 11, p. E363-E367, 2010.

VANDER BORGHT, M.; WYNS, C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. **Clinical Biochemistry**. v. n. p. [1, 2018.

VASSENA, R.; BOUE, S.; GONZALEZ-ROCA, E.; ARAN, B.; AUER, H.; VEIGA, A.; IZPISUA BELMONTE, J. C. Waves of early transcriptional activation and pluripotency program initiation during human preimplantation development. **Development**. v. 138, n. 17, p. 3699-3709, 2011.

VINCENT, A. M.; FELDMAN, E. L. Control of cell survival by IGF signaling pathways. **Growth hormone & IGF research**. v. 12, n. 4, p. 193-197, 2002.

VLISMAS, A.; BLETSA, R.; MAVROGIANNI, D.; MAMALI, G.; PERGAMALI, M.; DIPOPOULOU, V.; PARTSINEVELOU, G.; DRAKAKIS, P.; LOUTRADIS, D.; KIESSLING, A. A. Microarray Analyses Reveal Marked Differences in Growth Factor and Receptor Expression Between 8-Cell Human Embryos and Pluripotent Stem Cells. **Stem Cells and Development**. v. 25, n. 2, p. 160-177, 2016.

WALENKAMP, M. J.; KAPERIEN, M.; PEREIRA, A. M.; HILHORST-HOFSTEE, Y.; VAN DOORN, J.; CHEN, J.-W.; MOHAN, S.; DENLEY, A.; FORBES, B.; VAN DUYNENVOORDE, H. A. Homozygous and heterozygous expression of a novel

insulin-like growth factor-I mutation. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 90, n. 5, p. 2855-2864, 2005.

WALENKAMP, M. J.; LOSEKOOT, M.; WIT, J. M. Molecular IGF-1 and IGF-1 receptor defects: from genetics to clinical management. **Endocr Dev**. v. 24, n. p. 128-137, 2013.

WALENKAMP, M. J. E.; VAN DER KAMP, H. J.; PEREIRA, A. M.; KANT, S. G.; VAN DUYNENVOORDE, H. A.; KRUIHOF, M. F.; BREUNING, M. H.; ROMIJN, J. A.; KARPERIEN, M.; WIT, J. M. A Variable Degree of Intrauterine and Postnatal Growth Retardation in a Family with a Missense Mutation in the Insulin-Like Growth Factor I Receptor. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 91, n. 8, p. 3062-3070, 2006.

WANG, H.; DEY, S. K. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. **Nat Rev Genet**. v. 7, n. 3, p. 185-199, 2006.

WANG, J.; MAYERNIK, L.; SCHULTZ, J. F.; ARMANT, D. R. Acceleration of trophoblast differentiation by heparin-binding EGF-like growth factor is dependent on the stage-specific activation of calcium influx by ErbB receptors in developing mouse blastocysts. **Development**. v. 127, n. 1, p. 33-44, 2000.

WANG, X. Improving microRNA target prediction by modeling with unambiguously identified microRNA-target pairs from CLIP-ligation studies. **Bioinformatics**. v. 32, n. 9, p. 1316-1322, 2016.

WÄNGGREN, K.; LALITKUMAR, P.; HAMBILIKI, F.; STÅBI, B.; GEMZELL-DANIELSSON, K.; STAVREUS-EVERS, A. Leukaemia inhibitory factor receptor and gp130 in the human Fallopian tube and endometrium before and after mifepristone treatment and in the human preimplantation embryo. **Molecular human reproduction**. v. 13, n. 6, p. 391-397, 2007.

WARD, C. W.; HOYNE, P. A.; FLEGG, R. H. Insulin and epidermal growth factor receptors contain the cysteine repeat motif found in the tumor necrosis factor receptor. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**. v. 22, n. 2, p. 141-153, 1995.

WATANABE, T.; BIGGINS, J. S.; TANNAN, N. B.; SRINIVAS, S. Limited predictive value of blastomere angle of division in trophectoderm and inner cell mass specification. **Development**. v. 141, n. 11, p. 2279-2288, 2014.

WEROHA, S. J.; HALUSKA, P. The insulin-like growth factor system in cancer. **Endocrinol Metab Clin North Am**. v. 41, n. 2, p. 335-350, vi, 2012.

WHITE, V.; JAWERBAUM, A.; MAZZUCCO, M. B.; GAUSTER, M.; DESOYE, G.; HIDEN, U. IGF2 stimulates fetal growth in a sex- and organ-dependent manner. **Pediatr Res**. v. 83, n. 1-1, p. 183-189, 2018.

WIT, J. M.; WALENKAMP, M. J. (2013). Role of insulin-like growth factors in growth, development and feeding. Nutrition and Growth, Karger Publishers. **106**: 60-65.

WONG, N.; WANG, X. miRDB: an online resource for microRNA target prediction and functional annotations. **Nucleic Acids Research**. v. 43, n. D1, p. D146-D152, 2015.

WOODS, K.; CAMACHO-HUBNER, C.; BERGMAN, R.; BARTER, D.; CLARK, A.; SAVAGE, M. Effects of insulin-like growth factor I (IGF-I) therapy on body composition and insulin resistance in IGF-I gene deletion. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 85, n. 4, p. 1407-1411, 2000.

WOODS, K. A.; CAMACHO-HÜBNER, C.; SAVAGE, M. O.; CLARK, A. J. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. **New England Journal of Medicine**. v. 335, n. 18, p. 1363-1367, 1996.

WRENZYCKI, C.; HERRMANN, D.; LUCAS-HAHN, A.; KORSAWE, K.; LEMME, E.; NIEMANN, H. Messenger RNA expression patterns in bovine embryos derived from in vitro procedures and their implications for development. **Reprod Fertil Dev**. v. 17, n. 1-2, p. 23-35, 2005.

WU, R.; ZHOU, F. Insulin-like growth factor II and its receptor gene expression in the endometrium of women with unexplained infertility. **Zhonghua fu chan ke za zhi**. v. 39, n. 4, p. 242-245, 2004.

WU, Y.; TEWARI, M.; CUI, S.; RUBIN, R. Activation of the insulin-like growth factor-I receptor inhibits tumor necrosis factor-induced cell death. **Journal of cellular physiology**. v. 168, n. 3, p. 499-509, 1996.

XIA, H.-F.; CAO, J.-L.; JIN, X.-H.; MA, X. MiR199a is implicated in embryo implantation by regulating Grb10 in rat. **Reproduction**. v. 147, n. 1, p. 91-99, 2014a.

XIA, H.-F.; JIN, X.-H.; CAO, Z.-F.; SHI, T.; MA, X. MiR-98 is involved in rat embryo implantation by targeting Bcl-xl. **FEBS letters**. v. 588, n. 4, p. 574-583, 2014b.

XIA, H. F.; JIN, X. H.; CAO, Z. F.; HU, Y.; MA, X. MicroRNA expression and regulation in the uterus during embryo implantation in rat. **The FEBS journal**. v. 281, n. 7, p. 1872-1891, 2014c.

YAMANAKA, Y.; LANNER, F.; ROSSANT, J. FGF signal-dependent segregation of primitive endoderm and epiblast in the mouse blastocyst. **Development**. v. 137, n. 5, p. 715-724, 2010.

YANG, W.; KLAMAN, L. D.; CHEN, B.; ARAKI, T.; HARADA, H.; THOMAS, S. M.; GEORGE, E. L.; NEEL, B. G. An Shp2/SFK/Ras/Erk signaling pathway controls trophoblast stem cell survival. **Developmental cell**. v. 10, n. 3, p. 317-327, 2006.

YANG, W. C.; YANG, L. G.; RIAZ, H.; TANG, K. Q.; CHEN, L.; LI, S. J. Effects in cattle of genetic variation within the IGF1R gene on the superovulation performance and pregnancy rates after embryo transfer. **Anim Reprod Sci**. v. 143, n. 1-4, p. 24-29, 2013.

YEE, D.; LEBOVIC, G.; MARCUS, R.; ROSEN, N. Identification of an alternate type I insulin-like growth factor receptor beta subunit mRNA transcript. **Journal of Biological Chemistry**. v. 264, n. 36, p. 21439-21441, 1989.

ZAPF, J.; RINDERKNECHT, E.; HUMBEL, R.; FROESCH, E. Nonsuppressible insulin-like activity (NSILA) from human serum: recent accomplishments and their physiologic implications. **Metabolism-Clinical and Experimental**. v. 27, n. 12, p. 1803-1828, 1978.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F.; ADAMSON, G. D.; DYER, S.; RACOWSKY, C.; DE MOUZON, J.; SOKOL, R.; RIENZI, L.; SUNDE, A.; SCHMIDT, L.; COOKE, I. D. (2017). The international glossary on infertility and fertility care, 2017, Oxford University Press.

ZERBINO, D. R.; ACHUTHAN, P.; AKANNI, W.; AMODE, M. R.; BARRELL, D.; BHAI, J.; BILLIS, K.; CUMMINS, C.; GALL, A.; GIRÓN, C. G. Ensembl 2018. **Nucleic acids research**. v. 46, n. D1, p. D754-D761, 2017.

ZHANG, Q.; ZHANG, H.; JIANG, Y.; XUE, B.; DIAO, Z.; DING, L.; ZHEN, X.; SUN, H.; YAN, G.; HU, Y. MicroRNA-181a is involved in the regulation of human endometrial stromal cell decidualization by inhibiting Krüppel-like factor 12. **Reproductive Biology and Endocrinology**. v. 13, n. 1, p. 23, 2015.

ZHOU, J.; DSUPIN, B. A.; GIUDICE, L. C.; BONDY, C. A. Insulin-like growth factor system gene expression in human endometrium during the menstrual cycle. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 79, n. 6, p. 1723-1734, 1994.