

**REGULAÇÃO DA SECREÇÃO DO HORMÔNIO
ADRENOCORTICOTRÓFICO: PARTICIPAÇÃO DO CRH, DA
VASOPRESSINA E DA OCITOCINA EM MODELO DE
ADRENALECTONIA**

Laboratório de Biologia Molecular aplicada à Endocrinologia

Prof^a. Dr^a. Margaret de Castro
Maria Theresa Cerávolo Laguna
Sonir R. R. Antonini

As primeiras comprovações da existência do fator liberador da corticotrofina (CRF) foram divulgadas por Saffran e Schally, 1955, seguidas por Guillemin & Rosemberg em 1955, que demonstraram ser o extrato de hipotálamo capaz de liberar hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), em tecido hipofisário, "in vitro". O CRH é o principal coordenador da resposta endócrina, autonômica, comportamental e imune ao estresse. Este peptídeo foi inicialmente caracterizado no sistema hipotálamo-hipofisário, entretanto, está largamente distribuído através do sistema nervoso central (SNC) e em múltiplos órgãos periféricos, incluindo placenta, medula adrenal, pâncreas, pulmões, estômago, além de células imunológicas e do sistema inflamatório. As ações do CRH são mediadas através de receptores de membrana de alta afinidade (CRH-R), os quais acoplados ao nucleotídeo guanina da proteína G estimulatória (Gs) traduzem seu sinal através da estimulação da produção de cAMP.

Em humanos e em ratos existem dois subtipos de receptores do CRH (CRH-R1 e CRH-R2) cujas sequências do cDNA divergem significativamente na região 5'. No rato, o subtipo CRH-R2 apresenta duas isoformas (CRH-R2 α e CRH-R2 β) produzidas por um splicing alternativo do gene, e estas duas isoformas apresentam distribuição distinta nos tecidos. Estes estudos indicam que o subtipo CRH-R1 é expresso em subpopulações de tecidos onde os estudos de ligação mostraram ligação ao CRH, tais como hipófise, córtex e cerebelo. Por outro lado, a presença de receptores do CRF no núcleo paraventricular (PVN), a principal fonte hipotalâmica de CRH, não é muito clara. É importante ressaltar que nessas áreas há a predominância da expressão do CRH-R2 α . Em relação à expressão da isoforma

CRH-R2 β , esta tem sido encontrada, principalmente, em coração e músculo esquelético, estando ausentes em hipófise, córtex e cerebelo.

O NPV apresenta interconexões com outros núcleos hipotalâmicos, tais como amígdala, locus cerúleo e núcleo do trato solitário e a ativação dos receptores do CRF nestas áreas parece influenciar a função do NPV. Recentemente, foi demonstrado que frente à exposição a alguns paradigmas de estresse, tais como imobilização aguda ou repetida, estimulação osmótica por deprivação de água e injeção de salina hipertônica, há indução da expressão de mRNA CRF-R no NPV de forma estresse específica. A divisão parvicelular do NPV contém e libera além do CRH, a vasopressina (AVP). Estes hormônios estariam co-localizados em muitos dos grânulos neuro-secretórios. Entretanto, cerca de 60% dos terminais imunorreativos ao CRH parecem não conter vasopressina, no rato normal. Possivelmente, haveria duas populações de neurônios CRH cujas atividades poderiam ser independentemente reguladas por diferentes estímulos estressores. Um outro trajeto neuronal hipotalâmico que transporta AVP à EM é a clássica via neuro-secretória do sistema magnocelular, cujos corpos celulares estão no núcleo supra-óptico (NSO) e no NPV; seus axônios trafegam pela camada interna da EM e se dirigem à hipófise posterior.

Além da AVP, a ocitocina é também um secretagogo fraco para o ACTH e estes hormônios potencializam o efeito do CRH em nível hipofisário. Esta potencialização foi confirmada *in vitro*, por vários laboratórios, enquanto outros encontraram apenas efeito aditivo. Finalmente, Orth et al., 1985, confirmaram que AVP e CRH agem sinergicamente estimulando a secreção de ACTH, em humanos. As concentrações de AVP e de OT têm atraído um particular interesse em resposta a uma variedade de estressores. Vários autores têm relatado uma secreção estresse-induzida de AVP e/ou OT dos axônios terminais dos neurônios magnocelulares dentro da circulação sanguínea, onde estes peptídeos contribuiriam para manutenção da homeostase da secreção de ACTH. Portanto, estes peptídeos poderiam chegar ao sistema porta-hipofisário tanto pela liberação dos neurônios da hipófise posterior como também através de uma via curta, os vasos portais, promovendo dessa forma uma ligação entre o sistema hipotalâmico neuro-hipofisário e o sistema hipotálamo-hipófise-adrenal. O entendimento dessas relações é fundamental com respeito à ativação estresse-induzida do sistema neuro-hipofisário, desde que a AVP liberada em diferentes estruturas do SNC poderia influenciar a

regulação do eixo HHA em vias opostas: de um lado, em nível de hipotálamo, teria um potencial inibitório e em nível de eminência média e adeno-hipófise facilitaria a secreção de ACTH. A secreção de AVP e OT da hipófise posterior e da eminência média é induzida por estresse não seguem um padrão generalizado para todos os agentes estressores.

A adrenalectomia (ADX) induz a alterações no eixo HHA de maior magnitude e duração do que qualquer outro procedimento para avaliação do eixo HHA. Este modelo tem permitido novas informações sobre a regulação deste eixo pelos glicocorticóides e seus efeitos sobre a secreção de CRH e ACTH. A diminuição do número de receptores dos glicocorticóides (GR) induzida pelo ligante e seu aumento em resposta a remoção dos mesmos pela ADX têm sido demonstrados por ensaios de ligação. Mais recentemente, através de técnicas capazes de quantificarem a expressão do gene do GR, tais como hibridização *in situ*, os problemas associados aos ensaios de ligação podem ser potencialmente evitados. O mesmo aplica-se para técnicas que quantificam o mRNA de qualquer gene, incluindo os genes do CRH-R.

Em relação ao desenvolvimento desta linha de pesquisa dentro do laboratório, estudos prévios analisaram a evolução temporal da concentração plasmática de corticosterona e ACTH, do conteúdo hipofisário de ACTH e hipotalâmico de CRH, através das dosagens destes hormônios, por radioensaio (RIE), em diferentes períodos após ADX ou ADX fictícia, em ratos. Estudaram-se, também, as alterações ocorridas nos corticotrofos, por imunohistoquímica e a responsividade hipofisária *in vitro*, ao CRH. Esses resultados demonstraram que após a ADX a concentração plasmática de ACTH apresentou resposta trifásica. O estudo imunohistoquímico demonstrou inicial degranulação dos corticotrófos com progressivo aumento do número de células imunopositivas para o ACTH, havendo correlação entre este método e a dosagem do conteúdo hipofisário de ACTH, pelo RIE. Desde que a ADX de longa duração era incapaz de modificar os níveis do mRNA do CRH-R1 na hipófise, sugeria que a dessensibilização dos receptores do CRH, nestas condições, dependeria mais de eventos na tradução ou pós-tradução, do que na transcrição deste gene. Portanto, existem controvérsias quanto à regulação dos receptores para CRH, após longo período de ADX e adicionalmente, não existem dados quanto à distribuição destes receptores após curtos períodos de ADX. Adicionalmente, além do CRH, outros mecanismos contribuiriam para manutenção da secreção elevada de ACTH, como a presença de outros fatores neuronais ou humorais que não o CRH e

seus receptores, como por exemplo a AVP e a ocitocina (OT), interferindo com a capacidade da resposta hipofisária, nos diferentes períodos após ADX.

O exato papel da liberação central e/ou periférica desses peptídeos permanece obscuro, embora o envolvimento na regulação de ACTH tem sido fortemente sugerido. Portanto, avaliamos também a concentração destes peptídeos em animais submetidos a diferentes períodos de ADX. Adicionalmente, investigamos a resposta desses animais ao estresse de imobilização, para caracterizar as possíveis alterações da capacidade secretória de AVP e OT, na regulação da secreção de ACTH sob estas condições experimentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ORTH, D. N. Corticotropin-releasing hormone in humans. **Endocr. Rev.** v. 13, p. 164-191, 1992.
- GUIGUERI V., LABRIE F., COTE J., COY D.H., SUERIRAS-DIAZ J., SCHALLY A.V.. Stimulation of cyclic AMP accumulation and corticotropin release by synthetic ovine corticotropin-releasing factor in rat anterior pituitary: site of glucocorticoid action. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** v. 79, p. 3466-3469, 1982.
- LOVENBERG T.W., LIAW C.W., GRIGORIADES D.E., CLEVINGER W., CHALMERS, D.T., DE SOUZA E.B., OLTERSDORF T. Cloning and characterization of a functionally distinct corticotropin-releasing factor receptor subtype from rat brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** v. 92, p. 836-840, 1995.
- LUO X., KISS A., MAKARA G., LOLAET S.J., AGUILERA G. Stress-Specific Regulation of Releasing Hormone Receptor Expression in the Paraventricular and Supraoptic Nuclei of the Hypothalamus in the Rat. **Journal of Neuroendocrinology.** v. 6, p. 689-196, 1994
- CASTRO M., FIGUEIREDO F., MOREIRA A.C. Time-Course of Hypothalamic CRH and Pituitary ACTH Contents, and Pituitary Responsiveness to CRH Stimulation After Bilateral Adrenalectomy. **Horm. Met. Res.** v. 27, p. 10-15, 1994.
- LUO X, KISS A., RABADAN-DIEHL C., AGUILERA G. Regulation of Hypothalamic and Pituitary Corticotropin-Releasing Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acid by Adrenalectomy and Glucocorticoids. **Endocrinology.** v. 136, p. 3877-3883, 1995.