**RAFAEL MASO PRÉVIDE**

# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS E EM LONGO PRAZO DO HORMÔNIO TIREOIDIANO SOBRE O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL E SUA IMPORTÂNCIA FISIOLÓGICA

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientadora: Profa. Dra. Maria Tereza Nunes

Versão original

São Paulo
2016

## RESUMO

PRÉVIDE, R. M. **Avaliação dos efeitos agudos e em longo prazo do hormônio tireoidiano sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e sua importância fisiológica**. 2016. 83 f.Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Os hormônios tireoidianos (HTs) participam de diversos processos biológicos, por meio de ações que exercem sobre a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas com o metabolismo, crescimento e desenvolvimento, ações essas conhecidas como genômicas. Todavia, algumas ações dos HTs são desencadeadas na presença de inibidores da transcrição gênica, indicando que eles exercem também ações não genômicas. Poucos são os estudos que exploram a participação dos HTs na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, portanto, o presente estudo tem o objetivo de caracterizar as ações rápidas (30'), bem como as que ocorrem em longo prazo (5 dias) do T3 sobre a síntese de POMC e secreção de ACTH em cultura de células AtT-20 e em ratos submetidos a tireoidectomia (Tx) e posteriormente tratados com triiodotironina em doses fisiológicas e supra fisiológicas. Também verificamos a ação do T3 em cultura primária de adrenais e a ação do TSH em cultura primária de hipófises. Após esses tratamentos avaliamos a expressão de mRNA de POMC, CRH, PC1, StAR, CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2, 3β-HSD e SF-1 por qPCR, o conteúdo de POMC/ACTH por western blotting e a secreção de ACTH e corticosterona. Detectamos nos ratos Tx uma redução do conteúdo de mRNA da POMC, em paralelo a um aumento da sua cauda poli(A). O tratamento com T3 em dose suprafisiológica por 30 minutos ou 5 dias promoveu um aumento na expressão deste mRNA, embora os valores obtidos tenham sido inferiores aos detectados no grupo controle. Quanto ao conteúdo de POMC e ACTH, observamos que este permanece inalterado tanto no tratamento crônico, como no agudo com T3. A enzima PC1 tem sua expressão aumentada em ratos Tx, fato esse revertido a níveis iguais ao do controle pelo tratamento com T3. As enzimas responsáveis pela esteroidogênese e a corticosterona sérica não apresentaram diferenças entre tratamentos nos grupos estudados *in vivo*, apesar da redução sérica de ACTH em animais Tx, porém SF-1 teve sua expressão aumentada *in vitro* após tratamento com T3. Na cultura de hipófises, o TSH se mostrou capaz de aumentar a secreção de ACTH sem alteração de transcrição gênica de POMC e esse mecanismo pode ter a participação do AMPc e cálcio. O mRNA de POMC se reduziu quando as células AtT-20 foram cultivadas por 24 horas em meio depletado de HTs, situação que foi revertida quando as células foram tratadas por 30 minutos com T3 na dose $10^{-9}$M. O tratamento dessas células com o peptídeo RGD provocou a perda desse efeito, sugerindo uma ação de membrana. O tratamento prévio das células com actinomicina D também preveniu este efeito do T3. Estes dados sugerem que essa ação rápida do T3 é desencadeada primariamente na membrana celular e que envolve mecanismos que levam à indução da transcrição desse gene. Conclui-se que a ausência de T3 reduz o conteúdo de mRNA da POMC e a secreção de ACTH pela hipófise, apesar de mecanismos compensatórios estarem ativados e o TSH se mostrou um novo fator parácrino estimulante da secreção de ACTH em cultura primária de hipófise.



**Palavras-chave**: Triiodotironina. Hipófise. TSH. ACTH. Adrenal

## ABSTRACT

PRÉVIDE, R. M. **Acute and long therm effects of thyroid hormones on the hypothalamic-pituitary-adrenal axys and its physiological importance**. 2016. 83 p. Ph. D. Thesis (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Thyroid hormones (TH) participate in many biological processes, regulating the expression of genes that encode proteins involved in the metabolism, growth and development, actions these known as genomic actions. However, some actions of HTs are triggered in the presence of inhibitors of gene transcription and in short time, indicating that they also perform non genomic actions. There are few studies that explore the participation of HTs in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, therefore, the present study aims to characterize T3 quick actions (30') as well as those that occur in long-term (5 days) on POMC synthesis and ACTH secretion in AtT-20 cell culture and in rats subjected to thyroidectomy (Tx) and then treated with physiological and supraphysiological doses of T3. We also verified T3 actions in primary culture of adrenals and the action of TSH in primary cultures of pituitary glands. After these treatments we evaluated mRNA expression. of POMC, CRH, PC1, StAR, CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2, 3-HSD and SF-1 by qPCR, the content of POMC/ACTH by western blotting and secretion of ACTH and corticosterone. A reduction on POMC mRNA content was detected in Tx rats in parallel to an increase of their poly (A) tail. Treatment with T3 in supraphysiological dose for 30 minutes or 5 days promoted an increase in the expression of POMC mRNA, although the values were lower than those detected in the control group. As for the content of POMC and ACTH, we observed that it remained unchanged both in the chronic and acute treatments. PC1 enzyme had its expression increased in Tx rats, which is reverted to levels equal to control group by T3 treatment. The enzymes responsible for steroidogenesis and serum corticosterone showed no differences between treatments in the *in vivo* studied groups, despite the reduction of serum ACTH in Tx animals, but SF-1 had its expression increased *in vitro* after treatment with T3. In pituitary primary culture, TSH increased ACTH secretion with no alteration of POMC mRNA content and this mechanism may be mediated by cAMP and calcium. POMC mRNA was reduced when AtT-20 cells were cultured for 24 hours in medium depleted of TH and this situation was reversed when cells were treated for 30 minutes with T3 $10^{-9}$M. Treatment of these cells with RGD peptide prevented POMC mRNA increase in response to T3, suggesting that this T3 action depends on its binding to the membrane protein. Pretreatment of cells with actinomycin D also prevented this effect of T3. These data together suggest that this rapid action of T3 is triggered primarily in the cell membrane and involves mechanisms that lead to subsequent induction of POMC gene transcription. We conclude that T3 absence reduces POMC mRNA content and ACTH secretion by the pituitary due to a possible cytoskeleton impairment, although compensatory mechanisms are activated and TSH showed a new stimulating paracrine factor of ACTH secretion in primary culture of pituitary gland.



**Keywords**: Triiodothyronine. Pituitary. TSH. ACTH. Adrenal

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Hormônios tireoidianos – Biossíntese, regulação e mecanismos de ação

A glândula tireoide foi descrita em 1656 por Thomas Wharton e acreditava-se que a sua função era de embelezar o pescoço. Somente no fim do século 19 foi descoberto que a glândula exercia um papel funcional no organismo. Observou-se que o cretinismo e o mixedema (hipotireoidismo adulto) estavam associados a atrofia da glândula tireoide e a remoção da glândula tireoide provocava alterações semelhantes ao mixedema (LINDHOLM; LAURBERG, 2011). Já em 1891 foi detectado que o mixedema poderia ser tratado com injeções diárias de extrato de tireoide de ovelha e algum tempo depois foi obervado que tireoides levemente cozidas provocavam o mesmo efeito. Após estas evidencias, foi proposto que a tireoide produziria um composto que quando ausente causaria o mixedema (GALTON, 2013).

Em 1914, um composto contendo 65,3% de iodo foi isolado por Edward Kendall, porém só em 1927 a tiroxina (T4) foi quimicamente caracterizada. Outro composto produzido pela tireoide, a triiodotironina, foi descoberto por Gross e Pitt-Rivers em 1952 (LINDHOLM; LAURBERG, 2011).

A síntese dos hormônios tireoidianos (HTs) ocorre a partir da absorção ativa de iodeto pela proteína NIS, presente na tireóide e também em outros órgãos como intestino, glândulas salivares e na glândula mamária (PORTULANO; PARODER-BELENITSKY; CARRASCO, 2014). Na tireóide, após a absorção, o iodeto é transportado para o lúmen do folículo pela proteína apical denominada pendrina. No lúmen o iodeto é oxidado pela enzima TPO num processo catalisado pelo peróxido de hidrogênio e é incorporado nos resíduos de tirosina da tireoglobulina, passo também catalisado pela TPO. Nesse processo, denominado organificação do iodo, ocorre a formação de monoiodotirosina (MIT) ou diiodotirosina (DIT). Após a formação de DIT e MIT, essas sofrem um processo também catalisado pela TPO onde são acopladas ocorrendo a formação de T3, T4, rT3 e T2. Através da ação do TSH, a tireoglobulina é englobada pela célula folicular e é hidrolisada nos lisossomos liberando T3, T4, rT3, T2, MITs e DITs. MITs e DITs tem seu iodo removido para reaproveitamento enquanto os hormônios são secretados para a circulação (KIMURA, 2008; YEN, 2001).

O processo de síntese e secreção dos HTs está sobre regulação do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. No hipotálamo, mais precisamente no núcleo paraventricular, o hormônio liberador de tireotropina (TRH) é sintetizado. Após ser liberado na eminência mediana ele é transportado pela circulação porta hipofisária até a adeno-hipófise, ou hipófise anterior onde se

liga ao seu receptor, TRHR, presente nos tireotrofos e lactotrofos. Nos tireotrofos, a ativação do TRHR provoca aumento na síntese e secreção de hormônio tireotrófico (TSH) (JOSEPH-BRAVO et al., 2015). A ação clássica do TSH ocorre nos tireócitos, onde o mesmo age no receptor de TSH, TSHR. Ao se ligar a este receptor o TSH desencadeia a ativação tanto de Gs como de Gq. A ativação de Gs provoca liberação da subunidade alfa e ativação da adenilato ciclase, enzima responsável pela conversão de ATP em AMPc. Essas ações causadas pela ativação de Gs estão envolvidas com crescimento de tecido tireoidiano e secreção hormonal. Já a ativação de Gq ativa a fosfolipase C e controla a síntese hormônios na tireóide (DUPREZ et al., 1998; RICHARDS, 2008). Os hormônios T4 e T3 são então liberados pela tireóide e a sua própria produção também é responsável pela regulação de sua síntese, uma vez que esses hormônios são responsáveis pelo feedback negativo no hipotálamo e na hipófise, onde o T4 tem um papel mais importante que o T3 na regulação da síntese e secreção de TRH e TSH (ZOELLER; TAN; TYL, 2007).

No entanto, é necessário ficar claro que o TSH não age apenas na tireóide. O TSHR já foi descrito em outros tecidos, como no tecido adiposo (SORISKY; BELL; GAGNON, 2000), na hipófise (BROKKEN et al., 2001; PRUMMEL et al., 2000), nos rins, cérebro, coração, ossos, linfócitos e testículos (DAVIES; MARIANS; LATIF, 2002), tecidos nos quais exerce efeitos diferentes dos que exerce na tireóide. No tecido adiposo, o TSH regula a lipólise e está envolvido no processo de desenvolvimento e remodelamento de pré-adipócitos. Já na hipófise, ele foi localizado nas células folículo estreladas e os autores acreditam que seu papel seja de regulação fina da secreção de TSH, já que essas células se localizam próximas aos tireotrofos (PRUMMEL, et al., 2000).

Voltando aos HTs, o T4 circulante é sintetizado totalmente pela tireóide enquanto apenas 20% do T3 circulante é gerado pela glândula (KIMURA, 2008; YEN, 2001). Os 80% restantes são gerados pela desiodação do T4, sendo sua disponibilidade regulada pela atividade das desiodases, que são divididas em três tipos. As desiodases do tipo 1 são expressas principalmente no fígado, rins, tireóide e hipófise; as do tipo 2 no sistema nervoso central, adeno-hipófise, tecido adiposo marrom e placenta e as do tipo 3 no sistema nervoso central, placenta, pele e em tecidos fetais (BIANCO et al., 2002; OETTING; YEN, 2007).

Os HTs são transportados na corrente sanguínea ligados a proteínas transportadoras como a proteína ligadora de tiroxina (TBG), a transtirretina e albumina (KIMURA, 2008). Eles são transportados para o interior das células através de transportadores que se encontram na membrana celular, dos quais se destacam o transportador de monocarboxilato 8 e 10 (MCT8 e MCT10) no transporte de T3 e o transportador de ânions orgânicos, OATP1C1, para o

transporte de T4. O OATP1C1 é altamente expresso em capilares do cérebro, no próprio cérebro e nas células de Leydig, enquanto o MCT8 é expresso no cérebro, coração, fígado, adrenal e glândula tireóide. Já o MCT10 foi descrito no intestino, rim, músculo, placenta e fígado (BERNAL; GUADAÑO-FERRAZ; MORTE, 2015; JANSEN, et al., 2005; VISSER, FRIESEMA; VISSER, 2011).

Os hormônios tireoidianos regulam processos essenciais da vida dos vertebrados como crescimento, desenvolvimento e metabolismo. Eles participam da regulação do peso corporal e gasto energético. O excesso de hormônios tireoidianos causa um estado hipermetabólico, onde ocorre um aumento do gasto energético em repouso, perda de peso, redução do colesterol plasmático, aumento da lipólise e da gliconeogênese. Já no hipotireoidismo predomina um estado de hipometabolismo caracterizado por um reduzido gasto energético em repouso, ganho de peso, colesterol elevado, lipólise e gliconeogênese reduzidas (MULLUR; LIU; BRENT, 2014; OETTING; YEN, 2007).

As ações clássicas dos HTs são chamadas de genômicas e estas são responsáveis pela alteração na síntese de proteínas relacionadas ao crescimento, metabolismo e desenvolvimento. Para desencadear essas ações, os HTs interagem com seus receptores nucleares (THRs), que se ligam a regiões específicas denominadas elementos responsivos aos hormônios tireoidianos presentes na região promotora dos genes alvo provocando aumento ou diminuição de sua transcrição (MULLUR; LIU; BRENT, 2014; SHIBUSAWA et al., 2003). As ações genômicas são conhecidas também pelo fato de demorarem horas ou até mesmo dias para ocorrerem, já que dependem de alterações na expressão gênica da célula alvo e por serem mediadas principalmente pelo T3.

Os principais THRs são a THRα1, THRα2, THRα3, THRβ1, THRβ2 e THRβ3. Esses receptores possuem 3 domínios funcionais, sendo o primeiro, o domínio amino-terminal, o segundo o domínio de ligação ao DNA e o terceiro o domínio de ligação ao ligante. A região AF-1 encontra-se no primeiro domínio, mas sua função ainda é pouco conhecida. Sugere-se que a região AF-1 tenha a função de dar especificidade à ligação do THR ao TRE. A região AF-2 encontra-se no terceiro domínio, na região carboxi-terminal (Figura 1). Quando o T3 liga-se ao receptor, ocorrem mudanças conformacionais no mesmo permitindo a sua ligação a cofatores, podendo esses serem tanto ativadores como inibidores (Fig 2). Entre as isoformas α, o THRα1 é a única que possui capacidade de se ligar ao T3. As isoformas 2 e 3 não possuem essa capacidade, atuando como elementos dominantes negativos. Eles são encontrados em todos os tecidos, mas em maior quantidade no cérebro e no coração. Já todas as isoformas β (1, 2 e 3) são capazes de se ligar ao T3. O THRβ1 é encontrado em maior quantidade no músculo

esquelético, rim e fígado. Já o THRβ2 é mais expresso no cérebro, hipófise, retina e orelha interna. O THRβ3 é expresso somente no rato e é encontrado no pulmão, fígado e rins (CHENG; LEONARD; DAVIS, 2010; OETTING; YEN, 2007; ORTIGA-CARVALHO; SIDHAYE; WONDISFORD, 2014; YEN, 2001).

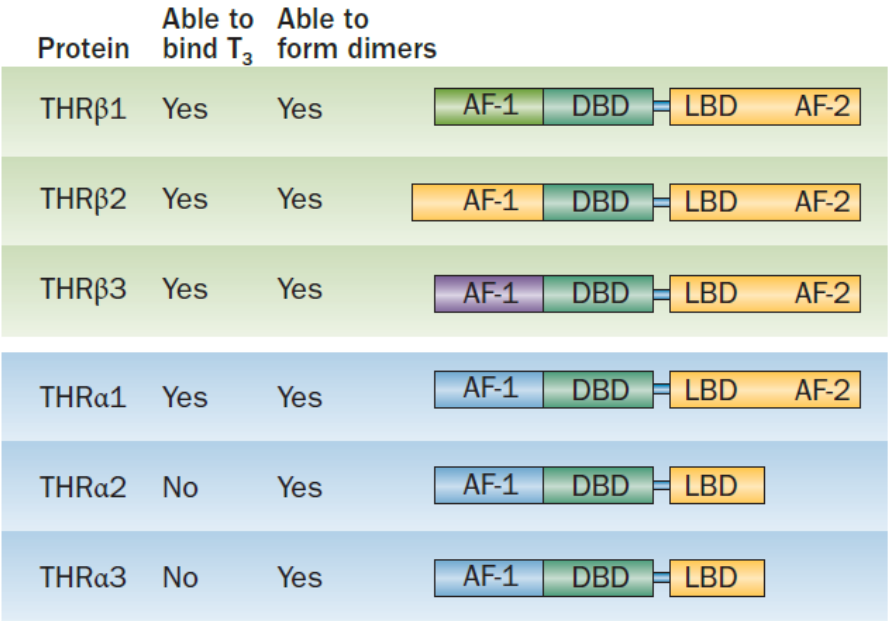


**Figura 1 - Receptores nucleares de hormônios tireoidianos (THRs). AF-1, fator de ativação 1, DBD, Domínio de ligação ao DNA, LBD, Domínio de ligação ao ligante, AF-2, fator de ativação 2. Adaptado de Ortiga-Carvalho, Sidhaye e Wondisford, 2014.**

Nos genes que são regulados positivamente pelo T3, os THRs encontram-se já ligados aos TREs, porém associados à co-repressores, impedindo assim que ocorra a transcrição gênica (fig 2). Quando o T3 se liga ao seu receptor nuclear, ocorre a liberação do co-repressor e a ligação de um co-ativador, o que dá início a transcrição gênica e consequente aumento do respectivo mRNA (KIMURA, 2008; OETTING; YEN, 2007; YEN, 2001).

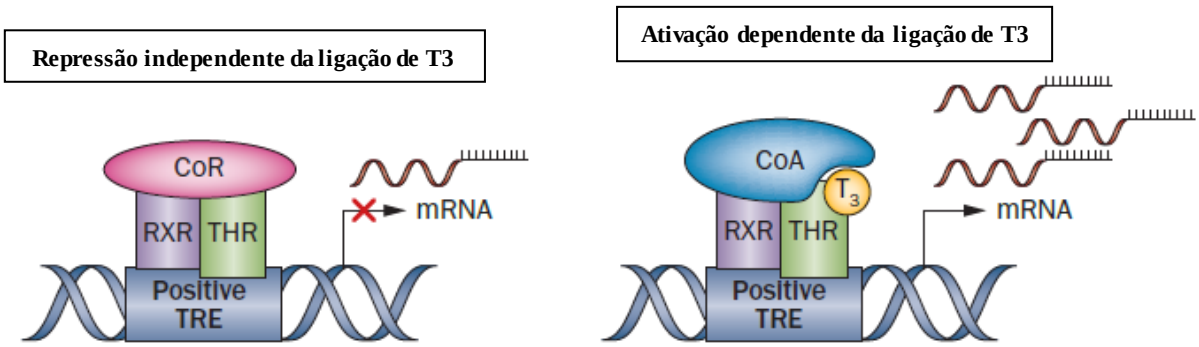


**Figura 2 - Mecanismo de ação do T3 em seus receptores nucleares. THR, receptor de hormônio tireoidiano, RXR, receptor X retinóide, Positive TRE, elemento responsivo positivo ao hormônio tireoidiano, CoR, co-repressor, CoA, co-ativador. Adaptado de Ortiga-Carvalho, Sidhaye e Wondisford, 2014.**

O hormônio tireoidiano também pode desencadear respostas em curto espaço de tempo, sendo essas ações denominadas não genômicas. Elas diferem das ações genômicas por se iniciarem na membrana ou no citoplasma e não no núcleo da célula (DAVIS et al., 2005; DAVIS; GOGLIA; LEONARD, 2015). Além disso, essas ações não são necessariamente iniciadas pelo T3, podendo também ser mediadas por T4, T2 e rT3.

A integrina de membrana αVβ3 é um conhecido sítio ligante para T3 e T4 envolvido nas ações não genômicas. Essa integrina possui dois domínios ligantes, S1 que tem maior afinidade por T3 e ativa a PI3K, e o S2, que tem afinidade tanto por T3 como por T4 e ativa a via da MAPK. As ações mediadas por essa integrina podem provocar o tráfico de proteínas para o núcleo e modular a expressão gênica através da fosforilação de $THR\beta_1$ ou de $ER\alpha_1$ nucleares. Além disso, $THR\beta_1$ e $ER\alpha_1$ citosólicos também podem ser fosforilados e migrarem para o núcleo quando o T4 se liga a integrina de membrana αVβ3 (fig. 3) (DAVIS et al., 1996; DAVIS et al., 2005; DAVIS et al., 2008). Outros sítios ligantes extranucleares do T3 são o $THR\beta_1$ e o $TR\Delta\alpha_1$ citosólicos (fig. 3).

Algumas ações não genômicas já foram demonstradas, como aumento da atividade da $Ca^{2+}$-ATPASE em eritrócitos (DAVIS et al., 1986), da $Na^{+}$-$K^{+}$-ATPASE em hepatócitos (LEI; BHARGAVA; INGBAR, 2009), a estimulação da respiração mitocondrial (STERLING; BRENNER; SAKURADA, 1980). Além desses, também foram descritos efeitos como aumento da inserção da $Na^{+}$-$K^{+}$-ATPASE na membrana, aumento de atividade de PI3K e MAPK, remodelação do citoesqueleto de actina e proliferação de células de osso humanas *in vitro,* todos mediados por ativação de receptores extranucleares (DAVIS; GOGLIA; LEONARD, 2015; SCARLETT et al., 2008). Relatos de rápido aumento na expressão gênica de genes envolvidos com a proliferação celular mediados pela ligação de HTs com a integrina de membrana αVβ3 também já foram feitos (KALYANARAMAN et al., 2014; LIN et al., 2009).

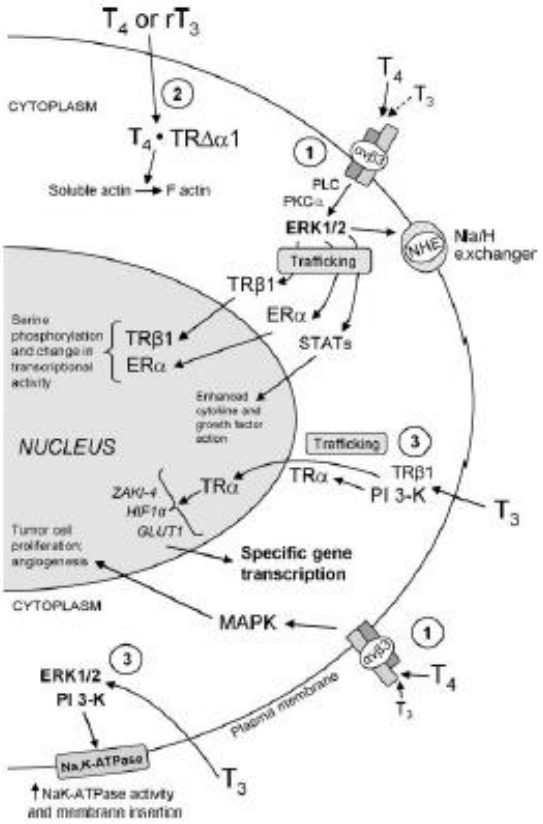


**Figura 3 - Ações não genômicas do T3 iniciadas na integrina de membrana αVβ3 ou no citoplasma. (Retirado de Cheng, Leonard e Davis, 2010)**

Algumas ações genômicas e não genômicas do T3 na hipófise foram descritas pelo nosso grupo de pesquisa. A hipófise é uma glândula localizada na base do encéfalo em uma concavidade do osso esfenoide denominada sela túrcica. A sua porção anterior é constituída por 6 tipos celulares fenotipicamente distintos, denominados corticotrofos, somatotrofos, gonadotrofos, tireotrofos, lactotrofos e somatomamotrofos (NUNES, 2008).

Silva e colaboradores (2006) demonstraram que, agudamente (30 min), o T3 aumenta tanto a síntese como a secreção de GH graças a um rearranjo do citoesqueleto de actina em hipófises de animais hipotireoideos. Foi observado também em somatotrofos que o hipotireoidismo provoca redução do recrutamento do mRNA do GH aos ribossomos e que a síntese de IGF-1 pelo fígado está prejudicada, parâmetros estes normalizados quando os ratos hipotiroideos foram tratados agudamente (30 min) com T3 (SILVA et al., 2010).

Em tireotrofos (GOULART-SILVA; DE SOUZA; NUNES, 2011) observou-se que o hipotireoidismo, induzido por tireoidectomia em ratos, provocou aumento da cauda poli(A) do mRNA do TSHβ, aumento da sua ligação com ribossomos e citoesqueleto, sugerindo aumento da estabilidade e da taxa de tradução desse transcrito. Porém, quando estes ratos foram tratados

com dose supra fisiológica de T3 por 30 minutos, ocorreu uma redução da cauda poli(A) e da ligação do transcrito do TSHβ aos ribossomos (GOULART-SILVA; DE SOUZA; NUNES, 2011), dado indicativo de que o T3 reduz a estabilidade e a tradução desse transcrito, antes mesmo de reprimir a transcrição desse gene. Em um estudo posterior em ratos hipotireoideos (Bargi-Souza et al., 2014) foi verificado que a administração de dose fisiológica de T3 (0,3 μg/100 g), após 30 min, foi capaz de reduzir o conteúdo do mRNA do TSHβ, bem como de aumentar a quantidade de grânulos de TSH nos tireotrofos, efeito decorrente de uma inibição da sua secreção.

Já no estudo que focou o efeito do T3 em gonadotrofos (ROMANO et al., 2013), verificou-se que o hipotireoidismo provocou um aumento na expressão do mRNA do LH, um aumento da sua cauda e uma redução do número de seus transcritos associados aos polissomos. Já o conteúdo de LH na hipófise estava reduzido, mas suas concentrações séricas estavam aumentadas em relação ao controle.

Enquanto essas ações do T3 estão bem definidas nos somatotrofos, tireotrofos e gonadotrofos, pouco se conhece sobre as mesmas em outras células hipofisárias. Por isso, nosso trabalho teve o intuito de esclarecer as ações genômicas e não genômicas do T3 nos corticotrofos, um grupamento celular de extrema importância para a sobrevivência dos seres vivos, pois regula a função das glândulas adrenais, o que será descrito a seguir.

## 1.2 Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

A proopiomelanocortina (POMC) é um polipeptídio precursor do ACTH. Presente em diversos tecidos, como hipófise, hipotálamo, outras regiões do sistema nervoso central e pele, a proopiomelanocortina sofre grande processamento pós-traducional. Esse processamento é tecido específico e gera, dependendo do caso, vários peptídeos envolvidos em funções biológicas diversas. POMC expressa nos corticotrofos é necessária para regulação da função adrenal, enquanto a POMC produzida em neurônios do hipotálamo exerce papel em controlar a dor e a homeostase energética. Já a produção de proopiomelanocortina na pele pode influenciar a melanogênese (RAFFIN-SANSON; KEYZER; BERTAGNA, 2003).

O hipotálamo controla a secreção hipofisária de ACTH, que é o hormônio responsável pela síntese e liberação de glicocorticóides. O principal estímulo hipotalâmico para a hipófise é o hormônio liberador de corticotropina (CRH), um peptídeo de 41 aminoácidos produzido no núcleo paraventricular do hipotálamo. A arginina vasopressina (AVP) é um potente

potencializador da ação do CRH em estimular a secreção de ACTH, porém a AVP por si só, possui pouca atividade secretagoga de ACTH (TSIGOS; CHROUSOS, 2002).

Em situações não estressantes, tanto CRH como AVP são secretados no sistema porta de maneira circadiana, pulsátil, com uma frequência de dois a três episódios de secreção por hora. Em situação de repouso, a amplitude dos pulsos de CRH e AVP aumenta no início da manhã, resultando em picos de secreção de ACTH e cortisol na circulação. Essas variações diurnas são perturbadas por mudanças na iluminação, horários de alimentação e atividade bem como pelo estresse (TSIGOS; CHROUSOS, 2002). A amplitude dos pulsos aumenta durante o estresse agudo e nessas condições, o sistema de estresse recruta secretagogos de CRH de fontes adicionais, como os neurônios magnocelulares liberadores de AVP e a angiotensina II (CHROUSOS, 1995).

A estimulação da atividade secretória dos corticotrofos envolve a produção de AMPc e aumento na concentração de cálcio intracelular. O aumento na atividade secretória é acompanhado por aumento da expressão do gene da POMC. Porém, o promotor da POMC não possui elementos responsivos ao AMPc e ao cálcio, indicando que mecanismos indiretos evoluíram para utilizar as cascatas de sinalização do AMPc e do cálcio para regular a expressão da proopiomelanocortina (JENKS, 2009). Quando no lúmen do retículo endoplasmático rugoso, a POMC segue o caminho intracelular de proteínas secretadas através do complexo de Golgi e é armazenada em grânulos de secreção, juntamente com os produtos finais do seu processamento. Tal processamento ocorre durante este tráfico, quando a molécula da POMC sofre uma série de clivagens proteolíticas pelas convertases do tipo 1 e 2 dando origem aos diversos peptídeos biologicamente ativos, como o ACTH, β-lipotrofina, β-endorfina e γ-lipotrofina (RAFFIN-SANSON; KEYZER; BERTAGNA, 2003).

O ACTH produzido nos corticotrofos é liberado na circulação e age na *zona fasciculata* das glândulas adrenais, onde promove o aumento da expressão de alguns genes e da atividade de enzimas envolvidas na biossíntese de corticosterona em roedores e cortisol em humanos (NICOLAIDES et al., 2015). O ACTH também age na *zona glomerulosa* e na *zona reticularis* influenciando a síntese de aldosterona e de andrógenos, respectivamente. Alguns dos genes estimulados na adrenal pelo ACTH são os da enzima StAR, CYP11A1, CYP11B1 e CYP11B2. A StAR é a enzima responsável pelo transporte de colesterol para a membrana interna da mitocôndria, CYP11A1 cliva a cadeia lateral da molécula de colesterol gerando pregnenolona, CYP11B1 converte 11-desoxicorticosterona em corticosterona e a CYP11B2 converte corticosterona em aldosterona na zona glomerulosa da adrenal (HANUKOGLU, 1992). Todo o processo de esteroidogênese é regulado por um receptor órfão nuclear denominado

“Steroidogenic factor 1” (SF-1). Esse receptor é encontrado em todas as camadas do córtex da adrenal, nos gonadotrofos da hipófise, células de Leydig e células de Sertoli dos testículos, no hipocampo e na porção dorso medial do hipotálamo (HOIVIK, et al., 2010; PARKER; SCHIMMER, 1997). Na adrenal, o SF-1 ativa genes responsáveis pela síntese de glicocorticoides, como os genes de StAR, das hidroxilases de esteroides P450 (CYPs), da 3β esteroide desidrogenase (3β-HSD) e do receptor de ACTH, Mc2R, sendo vital na regulação desse processo, já que camundongos knock-out de SF-1 na adrenal morrem nas primeiras horas de vida e não apresentam adrenais nem gônadas (CARON, et al., 1997; HOIVIK et al., 2010; LUO; IKEDA; PARKER, 1994; PARKER; SCHIMMER, 1997).

Os glicocorticoides participam da regulação do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteico agindo em tecidos como o fígado, músculo esquelético e tecido adiposo. Além dessas ações, atuam no sistema cardiovascular, participando do controle do tônus vascular, no sistema nervoso central, nos ossos e possuem participação importante na regulação da resposta inflamatória e imune (ELIAS et al., 2012; NICOLAIDES et al., 2015).

Alguns trabalhos relataram alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tireóide em situações de estresse. Esta condição tem sido associada com queda na concentração plasmática de T3, T4 e TSH, sem nenhuma mudança no conteúdo de mRNA do TRH e da somatostatina. Nessa situação há evidências de um aumento da expressão do mRNA desiodase do tipo 2 central e de redução da atividade da desiodase do tipo 1 hepática (BIANCO et al., 1987; HELMREICH; TYLEE, 2011). No entanto, as alterações causadas pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireóide no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ainda não foram completamente esclarecidas.

Embora em pequeno número, a literatura apresenta estudos sobre as ações do T3 no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de ratos. Há evidências de que no hipertireoidismo ocorre hipercorticosteronemia em ratos Sprague-Dawley (Johnson et al., 2005; Johnson et al., 2013), sem que ocorram alterações nos níveis plasmáticos de ACTH. Em outro estudo do mesmo grupo (Johnson et al., 2012) foi demonstrada uma redução da concentração de corticosterona circulante em ratos hipotiroideos. Porém esses estudos são controversos, pois apesar de relatarem alterações na corticosteronemia, eles não demonstram alterações moleculares compatíveis nos outros componentes do eixo que tem sua transcrição alterada pelo feed-back negativo exercido pela corticosterona.

Tendo em vista a escassez e a controvérsia de dados na literatura sobre as ações genômicas e a ausência de dados sobre ações não genômicas do hormônio tireoidiano sobre os corticotrofos, propomos com este trabalho investigar as ações do T3, a curto e longo prazo,

sobre a regulação da expressão e processamento da POMC, bem como as possíveis alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

### 1.3 Objetivos

O presente estudo teve como objetivo avaliar as ações do T3 a longo (5 dias) e/ou curto (30 minutos) prazo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e explorar as bases moleculares envolvidas nas mesmas. Com esse intuito realizamos experimentos *in vivo* utilizando ratos albinos da linhagem Wistar submetidos tireoidectomia e experimentos *in vitro* utilizando-se células AtT-20 (linhagem de células do corticotrofo) e cultura primária de adrenais. Além disso, verificamos ações do T3 e TSH em cultura primária de hipófise de ratos Sprague dawley. Após diversos tratamentos, foram avaliados parâmetros moleculares tais como:

(a) expressão gênica da proopiomelanocortina (POMC);
(b) comprimento de cauda poli(A) do mRNA da POMC;
(c) a taxa de tradução deste transcrito;
(d) o conteúdo de POMC e ACTH hipofisário;
(e) expressão gênica da pró-hormônio convertase do tipo 1 na hipófise;
(f) a expressão de genes responsivos ao ACTH em adrenais de ratos Wistar e em cultura primária de adrenais de ratos Sprague Dawley;
(g) dosagem sérica de ACTH e corticosterona;
(h) Secreção de ACTH em cultura primária de hipófises;
(i) Medida de AMPc em cultura primária de hipófises;
(j) Medida de cálcio citosólico em cultura primária de hipófises.

## 5 CONCLUSÃO

Por fim, concluímos que existe participação dos componentes do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, com uma ação mais relevante na hipófise. Uma série de mecanismos compensatórios são ativados em animais tireoidectomizados com o intuito de se manter a expressão de POMC e ACTH, porém a secreção de ACTH mesmo assim encontra-se prejudicada nesses animais. O T3 se mostrou capaz de regular mecanismos transcricionais e pós-transcricionais envolvidos na síntese de POMC e ACTH e reestabelecer a secreção de ACTH em animais tireoidectomizados, além de estimular a transcrição de SF-1 em cultura primária de adrenais. Além disso, o TSH se mostrou um novo fator parácrino que regula positivamente a secreção de ACTH em cultura de células hipofisárias.

## REFERÊNCIAS*


ANTUNES, T.T.; GAGNON, A.; BELL, A.; SORISKY, A. Thyroid-stimulating hormone stimulates interleukin-6 release from 3T3-L1 adipocytes through a cAMP-protein kinase A pathway. **Obesity Research**, v. 13, p. 2066–2071, 2005

ANTUNES, T.T.; GAGNON, A.; LANGILLE, M.L.; SORISKY, A. Thyroid-stimulating hormone induces interleukin-6 release from human adipocytes through activation of the nuclear factor-kappa B pathway. **Endocrinology**, v. 149, p. 3062–3066, 2008.

BARGI-SOUZA, P.; KUCKA, M.; BJELOBABA, I.; TOMIĆ, M.; JANJIC, M.M.; NUNES, M. T.; STOJILKOVIC, S. S. Loss of Basal and TRH-Stimulated *Tshb* Expression in Dispersed Pituitary Cells. **Endocrinology**, v. 156, n. 1, p. 242–254, 2015.

BARGI-SOUZA, P.; ROMANO, R.M.; SALGADO, R.M.; GOULART-SILVA, F.; BRUNETTO E.L.; ZORN, T.M.T.; NUNES, M.T. Triiodothyronine Rapidly Alters the TSH Content and the Secretory Granules Distribution in Male Rat Thyrotrophs by a Cytoskeleton Rearrangement-Independent Mechanism. **Endocrinology**, v. 155, n. 9, p. 3725-3735, 2014.

BENJANNET, S.; RONDEAU, N.; DAY, R.; CHRÉTIEN, M.; SEIDAH, N.G. PC1 and PC2 are proprotein convertases capable of cleaving proopiomelanocortin at distinct pairs of basic residues. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, p. 3564-3568, 1991.

BERNAL, J.; GUADAÑO-FERRAZ, A.; MORTE, B. Thyroid hormone transportes - functions and clinical implications. **Nature Reviews Endocrinology.**, v. 11, p. 406-417, 2015.

BIANCO, A.C.; NUNES, M.T.; HELL, N.S.; MACIEL, R.M. The role of glucocorticoids in the stress-induced reduction of extrathyroidal 3,5,3'-triiodothyronine generation in rats. **Endocrinology**, v. 120, n. 3, p. 1033-1038, 1987.

BIANCO, A.C.; SALVATORE, D.; GEREBEN, B.; BERRY, M.J.; LARSEN, P.R. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 1, p. 38-89, 2002.

BROKKEN, L.J.; SCHEENHART, J.W.; WIERSINGA, W.M.; PRUMMEL, M.F. Suppression of Serum TSH by Graves' Ig: Evidence for a Functional Pituitary TSH Receptor. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 10, p. 4814–4817, 2001.

CALOGERO, A.E.; GALLUCCI, W.T.; GOLD, P.W.; CHROUSOS, G.P.. Multiple feedback regulatory loops upon rat hypothalamic corticotropin releasing hormone secretion. Potential clinical implications. **Journal of Clinical Investigation**, v. 82, p. 767-774, 1988.


*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CARON, K.M.; IKEDA, Y.; SOO, S.C.; STOCCO, D.M.; PARKER, K.L.; CLARK, B.J. Characterization of the promoter region of the mouse gene encoding the steroidogenic acute regulatory protein. **Molecular Endocrinology**, v. 11, p. 138–147, 1997.

CHENG, S.Y.; LEONARD, J.L.; DAVIS, P.J. Molecular Aspects of Thyroid Hormone Actions. **Endocrine Reviews**, v. 31, p. 139-170, 2010.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanante-phenol-chloroform extraction. **Analytical Biochemistry.**, v. 162, p. 156-159, 1987.

CHROUSOS, G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 20, p. 1351-1362, 1995.

CODY, V.; DAVIS P.J.; DAVIS F.B. Molecular modeling of the thyroid hormone interactions with alpha v beta 3 integrin. **Steroids**, v. 72, p. 165-170, 2007.

DA SILVA, F.G.; GIANNOCCO, G.; SANTOS, M.F.; NUNES, M.T. Thyroid Hormone Induction of Actin Polymerization in Somatotrophs of Hypothyroid Rats: Potential Repercussions in Growth Hormone Synthesis and Secretion. **Endocrinology**, v. 147, p. 5777-5785, 2006.

DA SILVA, F.G.; GIANNOCCO, G.; LUCHESSI, A.D.; CURI, R.; NUNES, M.T. T3 acutely increases GH mRNA translation rate and GH secretion in hypothyroid rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 317, p. 1-7, 2010.

DAVIES, T.; MARIANS, R.; LATIF, R. The TSH receptor reveals itself. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 110, n. 2, p. 161-164, 2002.

DAVIS, P. J.; DAVIS, F. B. Nongenomic actions of thyroid hormone. **Thyroid,** v. 6, p. 497-504, 1996.

DAVIS, P.J.; DAVIS, F.B.; CODY, V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. **Trends in Endocrinology and Metabolism,** v. 16, p. 429-435, 2005.

DAVIS, P.J.; GOGLIA, F.; LEONARD, J.L. Nongenomic actions of thyroid hormone. **Nature Reviews Endocrinology.**, v. 12, p. 111-121, 2015.

DAVIS, P. J.; LEONARD, J. L.; DAVIS, F. B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. **Frontiers in Neuroendocrinology,** v. 29, p. 211-218, 2008.

DESBOROUGH, J.P. The stress response to trauma and surgery. **British Journal of Anaesthesia**, v. 85, n. 1, p. 109-117, 2000.

DENEF, C. Paracrinicity: The Story of 30 Years of Cellular Pituitary Crosstalk. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 1, p. 1-70, 2008.

DUPREZ, L.; PARMA, J.; VAN SANDE, J.; RODIEN, P.; DUMONT, J.E.; VASSART, G.; ABRAMOWICZ, M. TSH receptor mutations and thyroid disease. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 9, p. 133-139, 1998.

ELIAS, L.L.K.; FERNANDES-ROSA, F.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; CASTRO, M. Fisiologia da glândula adrenal. In: AIRES, M. M. (ed.) **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. p. 1015-1031.

FULLER, R.W. The involvement of serotonin in regulation of pituitary adrenocortical function. **Frontiers in Neuroendocrinology**, vol. 13, p. 250-270, 1992.

GALTON, V.A. The history of 3,5,3'-triiodothyronine. **Thyroid**, v. 23, p. 9-13, 2013.

GETTEMANS, J.; VAN IMPE, K.; DELANOTE, V.; HUBERT, T.; VANDEKERCKHOVE, J.; DE CORTE, V. Nuclear actin-binding proteins as modulators of gene transcription. **Traffic**, v. 6, p. 847-857, 2005.

GILLIES, G.E.; LINTON, E.A.; LOWRY, P.J. Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. **Nature**, v. 299, p. 355-357, 1982.

GOULART-SILVA, F.; SOUZA, P.B.; NUNES, M.T. T3 rapidly modulates TSHβ mRNA stability and translational rate in the pituitary of hypothyroid rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 332, p. 277-282, 2011.

HADDAD, F.; QIN, A. X.; McCUE, S. A.; BALDWIN, K. M. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism,** v. 274, p. 1018-1026, 1998.

HANUKOGLU, I. Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 43, n. 8, p. 779-804, 1992.

HARROLD, S.; GENOVESE, C.; KROBIN, B.; MORRISON, S.L.; MILCAREK, C. A comparison os apparent mRNA half-life using kinetic labeling techniques vs decay following administration of transcriptional inhibitors. **Analytical Biochemistry,** v. 198, p. 19-29, 1991.

HELMREICH, D.L.; TYLEE, D. Thyroid hormone regulation by stress and behavioral differences in adult male rats. **Hormones and behavior**, v. 60, n. 3, p. 284-291, 2011.

HOIVIK, E.A.; LEWIS, A.E.; AUMO, L.; BAKKE, M. Molecular aspects of steroidogenic factor 1 (SF-1). **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 315, p. 27-39, 2010.

HORNSBY, P.J. Regulation of adrenocortical cell proliferation in culture. **Endocrine Research**, v. 10, p. 259–281, 1985.

JANSEN, J.; FRIESEMA, E.C.; MILICI, C.; VISSER, T.J. Thyroid hormone transporters in health and disease. **Thyroid**, v. 15, p. 757-768, 2005.

JENKS, B.G. Regulation of Proopiomelanocortin Gene Expression. **Trends in Comparative Endocrinology and Neurobiology: Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1163, p. 17-30, 2009.

JOHNSON, E.O.; KAMILARIS, T.C.; CALOGERO, A.E.; GOLD, P.W.; CHROUSOS, G.P. Experimentally-induced hyperthyroidism is associated with activation of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **European Journal of Endocrinology**, v. 153, n. 1, p. 177-185, 2005.

JOHNSON, E.O.; CALOGERO, A.E.; KONSTANDI, M.; KAMILARIS, T.C.; LA VIGNERA, S.; CHROUSOS, G.P. Effects of short- and long-duration hypothyroidism on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in rats: in vitro and in situ studies. **Endocrine**, v. 42, n. 3, p. 684-693, 2012.

JOHNSON, E.O.; CALOGERO, A.E.; KONSTANDI, M.; KAMILARIS, T.C.; LA VIGNERA, S.; CHROUSOS, G.P. Effects of experimentally induced hyperthyroidism on central hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in rats: in vitro and in situ studies. **Pituitary**, v. 16, n. 2, p. 275-286, 2013.

JOHNSON, E.O.; KAMILARIS, T.C.; CALOGERO, A.E.; KONSTANDI, M.; CHROUSOS, G.P. Effects of short- and long-duration hypothyroidism on function of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Journal of endocrinological investigation**, v. 36, n. 2, p. 104-110, 2013.

JOSEPH-BRAVO, P; JAIMES-HOY, L.; URIBE, R.M.; CHARLI, J.L. 60 years of neuroendocrinology: TRH, the first hypophysiotropic releasing hormone isolated: control of the pituitary-thyroid axis. **Journal of Endocrinology**, v. 226, n. 2, p. 85-100, 2015.

KALYANARAMAN, H.; SCHWAPPACHER, R.; JOSHUA, J.; ZHUANG, S.; SCOTT, B.T.; KLOS, M.; CASTEEL, D.E.; FRANGOS, J.A.; DILLMANN, W.; BOSS, G.R.; PILZ, R.B. Nongenomic thyroid hormone signaling occurs through a plasma membrane-localized receptor. **Science signaling**, v. 7, n. 326, 2014.

KEVIN, N.; BLUM, M.; ROBERTS, J.L. Modulation of basal and corticotropin releasing factor stimulated proopiomelanocortin gene expression by vasopressin in rat anterior pituitary. **Endocrinology**, v. 125, p. 2957-2966, 1989.

KIMURA, E.T. Glândula tireóide. In: AIRES, M. M. (ed.) **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. p. 991-1014.

KISHIMOTO, T. IL-6: from its discovery to clinical applications. **International immunology**, v. 22, n. 5, p. 347-352, 2010.

KRANE, I.M.; SPINDEL, E.R.; CHIN, W.W. Thyroid hormone decreases the stability and the poly(A) tract length of rat thyrotropin beta-subunit messenger RNA. **Molecular Endocrinology**, v. 5, n. 4, p. 469-475, 1991.

LEI, J.; BHARGAVA, M.; INGBAR, D. H. Cell-specific signal transduction pathways regulating Na+-K+-ATPase. Focus on short-term effects of thyroid hormones on the Na+-K+-ATPase activity of chick embryo hepatocytes during development: focus on signal transduction'. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 296, p. C1–C3, 2009.

LIN, H.Y.; SUN, M.; TANG, H.Y.; LIN, C.; LUIDENS, M.K.; MOUSA, S.A.; INCERPI, S.; DRUSANO, G.L.; DAVIS, F.B.; DAVIS, P.J. L-Thyroxine vs. 3,5,3'-triiodo-L-thyronine and

cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. **American Journal of Physiology Cell Physiology**, v. 296, n. 5, p. 980-991, 2009.

LINDHOLM, J.; LAURBERG, P. Hypothyroidism and Thyroid Substitution: Historical Aspects. **Journal of Thyroid Research**, v. 2011, 10 p, 2011.

LIU, D.; WAXMAN, D.J. Post-transcriptional regulation of hepatic NADPH-cytochrome P450 reductase by thyroid hormone: independent effects on poly(A) tail length and mRNA stability. **Molecular Pharmacology**, v. 61, n. 5, p. 1089-1096, 2002.

LUO, X.; IKEDA, Y.; PARKER, K.L. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. **Cell**, v. 77, p. 481–490, 1994.

MATTOS, G.E.; LOTFI. C.F. Differences between the growth regulatory pathways in primary rat adrenal cells and mouse tumor cell line. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 245, p. 31-42, 2005.

MULLUR, R.; LIU, Y.Y.; BRENT, G.A. Thyroid hormone regulation of metabolism. **Physiological reviews**, v. 94., n. 2, p. 355-382, 2014.

MURPHY, D.; PARDY, K.; SEAH, V.; CARTER, D. Posttranscriprional Regulation of Rat Growth hormone Gene Expression: increased message Stability and Nuclear polyadenylation accompany Thyrois Hormone Depletion. **Molecular and Cellular Biology**, v. 12, n. 6, p. 2624-2632, 1992.

NICOLAIDES, N.C.; KYRATZI, E.; LAMPROKOSTOPOULOU, A.; CHROUSOS, G.P.; CHARMANDARI, E. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. **Neuroimmunomodulation**, v. 22, n. 1-2, p. 6-19, 2015.

NUNES, M.T. A glândula hipófise. In: AIRES, M. M. (ed.) **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. p. 952-979.

OETTING, A.; YEN, P.M. New insights into thyroid hormone action. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 2, p. 193-208, 2007.

ORTIGA-CARVALHO, T.M.; SIDHAYE, A.R.; WONDISFORD, F.E. Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, p. 582-591, 2014.

PARKER, K.L.; SCHIMMER, B.P. Steroidogenic Factor 1: A Key Determinant of Endocrine Development and Function. **Endocrine reviews**, v. 18, p. 361-377, 1997.

PORTULANO, C.; PARODER-BELENITSKY, M.; CARRASCO, N. The Na+/I- symporter (NIS): mechanism and medical impact. **Endocrine Reviews**, v. 35, p. 106-149, 2014.

PRUMMEL, M.F.; BROKKEN, L.J.; MEDURI, G.; MISRAHI, M.; BAKKER, O; WIERSINGA, W.M. Expression of the thyroid-stimulating hormone receptor in the folliculo-stellate cells of the human anterior pituitary. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, p. 4347-4353, 2000.

RAFFIN-SANSON, M.L.; KEYZER, Y.; BERTAGNA, X. Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: from physiology to pathological conditions. **European Journal of Endocrinology,** v. 149, p. 79–90, 2003.

RENNER, U.; GLODDEK, J.; PEREDA, M.P.; ARZT, E.; STALLA, G.K. Regulation and role of intrapituitary IL-6 production by folliculostellate cells. **Domestic Animals Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 353-362, 1998.

RICHARDS, J.S. New Signaling Pathways for Hormones and Cyclic Adenosine 3′,5′-Monophosphate Action in Endocrine Cells. **Molecular Endocrinology**, v. 15, p. 209-218, 2008.

RIVIER, C. Does IL-6 release ACTH by exerting a direct effect in the rat anterior pituitary. STRESS, v. 4, n. 1, p. 39-55, 2001.

ROMANO, R.M.; BARGI-SOUZA, P.; BRUNETTO, E.L.; GOULART-SILVA, F.; AVELLAR, M.C.W.; OLIVEIRA, C.A.; NUNES, M.T. Hypothyroidism in Adult Male Rats Alters Posttranscriptional Mechanisms of Luteinizing Hormone Biosynthesis. **Thyroid**, v. 23, p. 497-505, 2013.

SALLÉS, F. J.; RICHARDS, W. G.; STRICKLAND, S. Assaying the Polyadenilation State of mRNAs. **Methods: A Companion to Methods in Enzimology**, v. 17, p. 38-45, 1999.

SAPOLSKY, R.; RIVIER, C.; YAMAMOTO, G.; PLOTSKY, P.; VALE, W. Interleukin-1 stimulates the secretion of hyphotalamic corticotropin releasing factor. **Science**, v. 238, p. 522-524, 1987.

SCARLETT, A.; PARSONS, M.P.; HANSON, P.L.; SIDHU, K.K.; MILLIGAN, T.P.; BURRIN, J.M. Thyroid hormone stimulation of extracellular signal-regulated kinase and cell proliferation in human osteoblast-like cells is initiated at integrin alphaVbeta3. **Journal of Endocrinology**, v. 196, n. 3. P. 509-517, 2008.

SCHOENBERG, D.R.; MAQUAT, L.E. Regulation of cytoplasmic mRNA decay. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 4, p. 246-259, 2012.

SHIBUSAWA, N.; HOLLENBERG, A. N.; WONDISFORD, F. E. Thyroid Hormone Receptor DNA Binding is required for both Positive and Negative Gene Regulation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 2, p. 732-738, 2003.

SHUPNIK, M.A.; CHIN, W.W.; ROSS, D.S.; DOWNING, M.F.; HABENER, J.F.; RIDGWAY, C. Regulation by thyroxine of mRNA encoding the  Subunit of Mouse Thyrotropin. **The Journal of Biological Chemistry,** v. 258, n. 24, p. 15120-15124, 1983.

SHUPNIK, M.A.; ARDISSON, L.J.; MESKELL, M.J.; BORNSTEIN, J; RIDGWAY, E.C. Triiodothyronine (T3) regulation of thyrotropin subunit gene transcription is proportional to T3 nuclear receptor occupancy. **Endocrinology**, v. 118, p. 367–371, 1986.

SILVA, F.G.; GIANNOCCO, G.; SANTOS, M. F.; NUNES, M. T. Thyroid Hormone Induction of Actin Polymerization in Somatotrophs of Hypothyroid Rats: Potential

Repercussions in Growth Hormone Synthesis and Secretion. **Endocrinology**, v. 147, p. 5777-5785, 2006.

SILVA, F.G.; GIANNOCCO, G.; LUCHESSI, A.D.; CURI, R.; NUNES, M.T. T3 acutely increases GH mRNA translation rate and GH secretion in hypothyroid rats. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 317, p. 1-7, 2010.

SORISKY, A; BELL, A.; GAGNON, A. TSH Receptor in adipose cells. **Hormone and Metabolic Research**, v. 32, p. 468-474, 2000.

STATON, M. J.; LEEDMAN, P. J.. Posttrancriptional Regulation of Thyrotropin β- Subunit Messenger Ribonucleic Acid by Thyroid Hormone in Murine Thyrotrope Tumor Cells: A Conserved Mechanism across Species. **Endocrinology,** v. 139, n. 3, p. 1093-1100, 1998.

STOJILKOVIC, S.S. Molecular mechanisms of pituitary endocrine cell calcium handling. **Cell calcium**, v. 51, n. 3-4, p. 212-221, 2012.

STOJILKOVIC, S.S.; TABAK, J.; BERTRAM, R. Ion channels and signaling in the pituitary gland. **Endocrine reviews**, v. 31, n. 6, p. 845-915, 2010.
TSIGOS, C.; CHROUSOS, GP.. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **Journal of psychosomatic research**, v. 53, n. 4, p. 865-871, 2002.

VISSER, W.E.; FRIESEMA, E.C.; VISSER, T.J. Minireview: thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. **Molecular Endocrinology**, v. 25, p. 1-14, 2011.

WONG, M.L.; AL SHEKHLEE, A.; BONGIORNO, P.B.; ESPOSITO, A.; KHATRI, P.; STERNBERG, E.M.; GOLD, P.W.; LICINIO, J. Localization of urocortin messenger RNA in rat brain and pituitary. **Molecular Psychiatry**, v. 1, p. 307-312, 1996.

YEN, P.J. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. **Physiological reviews**, v. 81, n. 3, p. 1097-1142, 2001.

ZHANG, X.; VIRTANEN, A.; KLEIMAN, F.E. To polyadenylate or to deadenylate: that is the question. **Cell cycle**, v. 9, n. 22, p. 4437-4449, 2010.

ZOELLER, R.T.; TAN, S.W.; TYL, R.W. General background on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis. **Critical reviews in toxicology**, v. 37, n. 1-2, p. 11-53, 2007.