

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

THAIS BARABBA AURICINO

**O papel de SOCS3 na regulação da diferenciação do córtex  
adrenal de camundongos**

São Paulo

2023

THAIS BARABBA AURICINO

O papel de SOCS3 na regulação da diferenciação do córtex  
adrenal de camundongos

Versão Original

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Prof. Dra. Claudimara Ferini  
Pacicco Lotfi

São Paulo

2023

## RESUMO

AURICINO, T. B. **O papel de SOCS3 na regulação da diferenciação do córtex adrenal de camundongos.** Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2023.

Durante o desenvolvimento e diferenciação da glândula adrenal, a zona fetal (FZ) sofre um processo de regressão e diferenciação dando origem à zona definitiva (zD) do córtex adrenal. Em humanos, o zD dá origem às zonas glomerulosa (ZG) e fasciculada (ZF) entre os 2-4 anos de idade, enquanto a diferenciação da zona reticulada (ZR) ocorre entre os 6-9 anos de idade. Em camundongos, a zona fetal é chamada de zona X (zX), que nos machos regride durante a puberdade (21-30 dias de vida) e nas fêmeas após a primeira gestação. Recentemente, resultados publicados pelo nosso grupo, em camundongos *knockout* (KO) SF-1/SOCS3 KO, mostrou a retenção da zX em machos adultos e em fêmeas pós-parto. Portanto, tivemos como hipótese que a via JAK/STAT/SOCS3 pode desempenhar um papel na diferenciação da glândula adrenal. Para testar essa hipótese, primeiramente, confirmamos que SOCS3 não está expresso exclusivamente em células que expressam o fator SF-1, como nas adrenais e testículos, em camundongos KO, e dessa forma confirmamos o modelo de camundongo KO para SOCS3 que obtivemos. Depois verificamos a condição de ativação da via JAK/STAT nesses animais, e detectamos um aumento da proteína STAT3 fosforilada, em relação ao controle, com e sem o estímulo da Interleucina-6, o que sugere que, devido a ausência de SOCS3, inibidor da via JAK/STAT, esta via está mais ativa nos camundongos KO. A caracterização morfológica da adrenal, através da coloração por HE e da localização da zX através da enzima CYP17A1, em camundongos machos KO e fêmeas virgens com 3, 8, 15 e 30 semanas de idade e de fêmeas pós-parto, mostrou retenção da zX independentemente da idade analisada. Além disso, diferentes marcadores moleculares da zX, como o *enhancer* específico da adrenal fetal (FAdE), Pik3c2g e gene da enzima 20 $\alpha$ HSD foram analisados por RT-PCR, e estão expressos em camundongos KO machos de 3, 8 e 15 semanas de idade, mas não em camundongos controle. A transfecção do gene SOCS3 em cultura de células do córtex adrenal de camundongos KO mostrou uma redução da expressão de FAdE e de outros fatores diferencialmente expressos. A avaliação funcional da adrenal através da análise da presença de lipídeos no córtex adrenal de camundongos KO machos com 30 semanas, mostrou uma redução, quando comparamos com o controle, o que não foi observada através da quantificação da corticosterona plasmática em diferentes idades. Em resumo, mostramos a retenção da zX em animais que não expressam SOCS3 na glândula adrenal e que via JAK/STAT está menos ativa. A retenção da zX parece estar relacionada, através de um mecanismo ainda não desvendado, com a manutenção do *enhancer* de SF-1, o gene FAdE. Portanto, SOCS3 pode estar envolvido na diferenciação/renovação do córtex adrenal de camundongos por um mecanismo que precisa ser ainda elucidado.

**Palavras-chave:** Córtex adrenal. Zona-X. Diferenciação. SOCS3. Via de sinalização JAK/STAT.

## ABSTRACT

AURICINO, T. B. **The role of SOCS3 in the regulation of differentiation in the mouse adrenal cortex.** 2023 (PhD. Thesis). Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, 2023.

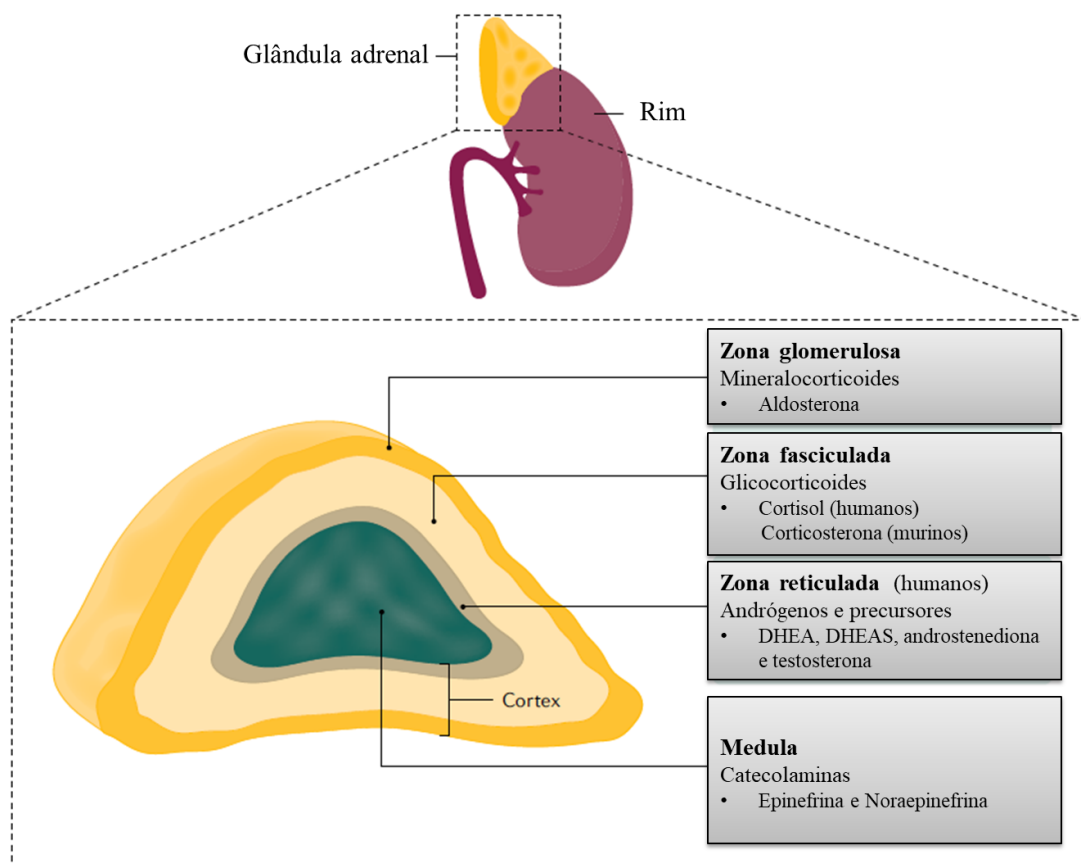
During the development and differentiation of the adrenal gland, the fetal zone (FZ) undergoes a process of regression and differentiation, giving rise to the definitive zone (zD) of the adrenal cortex. In humans, the zD gives rise to the zona glomerulosa (ZG) and fasciculata (ZF) between 2-4 years of age, while differentiation of the zona reticulata (ZR) occurs between 6-9 years of age. In mice, the fetal zone is called zone X (zX), which in males regresses during puberty (21-30 days of life) and in females after the first pregnancy. Recently, results published by our group, in SF-1/SOCS3 KO knockout (KO) mice, showed zX retention in adult males and postpartum females. Therefore, we hypothesized that the JAK/STAT/SOCS3 pathway may play a role in adrenal gland differentiation. To test this hypothesis, first, we confirm that SOCS3 is not exclusively expressed in cells that express the SF-1 factor, such as adrenals and testes, in KO mice, and in this way we confirm the KO mouse model for SOCS3 that we obtained. Condition of activation of the JAK/STAT pathway in these animals, and we detected an increase in the phosphorylated STAT3 protein, in relation to the control, with and without the stimulus of Interleukin-6, which suggests that, due to the absence of SOCS3, inhibitor of the JAK pathway /STAT, this pathway is more active in KO mice. The morphological characterization of the adrenal, through HE staining and zX localization through the CYP17A1 enzyme, in male KO mice and virgin females at 3, 8, 15 and 30 weeks of age and in postpartum females, showed retention of zX regardless of the analyzed age. In addition, different molecular markers of zX, such as the fetal adrenal specific enhancer (FAdE), Pik3c2g and the 20 $\alpha$ HSD enzyme gene were analyzed by RT-PCR, and are expressed in male KO mice at 3, 8 and 15 weeks of age, but not in control mice. Transfection of the SOCS3 gene into cultured cells from the adrenal cortex of KO mice showed a reduction in the expression of FAdE and other differentially expressed factors. The functional assessment of the adrenal through the analysis of the presence of lipids in the adrenal cortex of male KO mice at 30 weeks, showed a reduction, when compared with the control, which was not observed through the quantification of plasmatic corticosterone at different ages. In summary, we showed zX retention in animals that do not express SOCS3 in the adrenal gland and that the JAK/STAT pathway is less active. The retention of zX seems to be related, through a mechanism not yet revealed, with the maintenance of the SF-1 enhancer, the FAdE gene. Therefore, SOCS3 may be involved in the differentiation/renewal of the mouse adrenal cortex by a mechanism that still needs to be elucidated.

**Keywords:** Adrenal Cortex. X-zone. Differentiation. SOCS3. JAK/STAT signaling pathway.

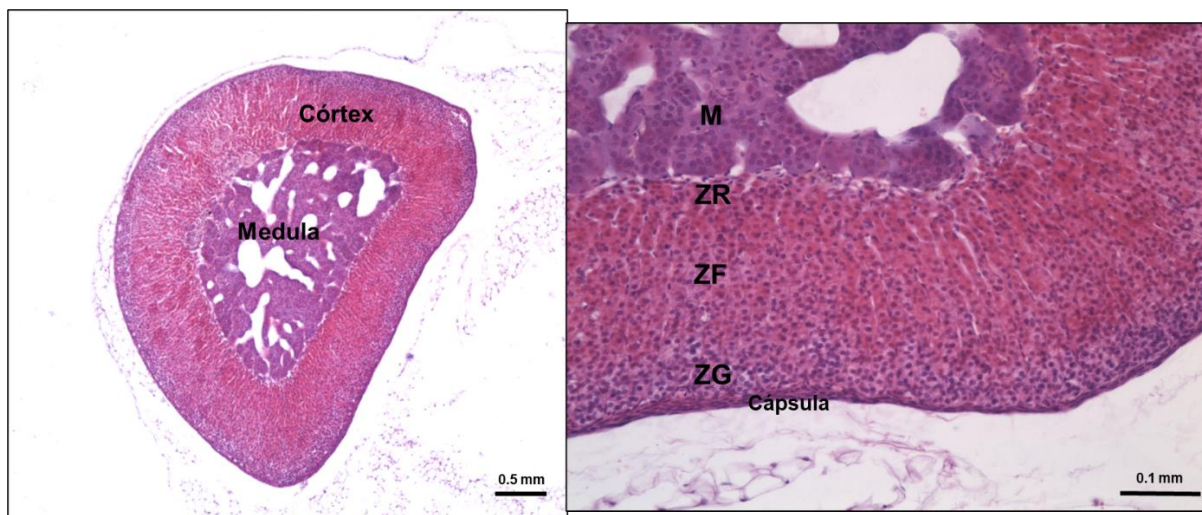
# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 A Glândula adrenal

A glândula adrenal é formada por dois tecidos de origem e função distintas, o córtex e a medula, envolvidos por uma cápsula de tecido mesenquimal. A medula adrenal tem origem embrionária na neuroectoderme, e é responsável pela produção de catecolaminas. É formada por cordões de células cromafins e células neurais circundadas por capilares sanguíneos. O córtex adrenal tem origem na mesoderme intermediária, e na glândula de adultos é dividida em três zonas concêntricas, as Zonas Glomerulosa (ZG), Fasciculada (ZF) e a Reticular (ZR), representadas na Figura 1 e 2.



**Figura 1** – Figura representativa da glândula adrenal em humanos e suas regiões. Fonte: Lyraki and Schedl (2021).



**Figura 2** – Fotomicrografia representativa da glândula adrenal de camundongo. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina para a identificação das 3 diferentes zonas do córtex da adrenal, ZG = zona Glomerulosa; ZF= zona Fasciculada; \*Representativo da ZR= zona Reticulada; M= Medula. Fonte: Pedroso e colaboradores (2017).

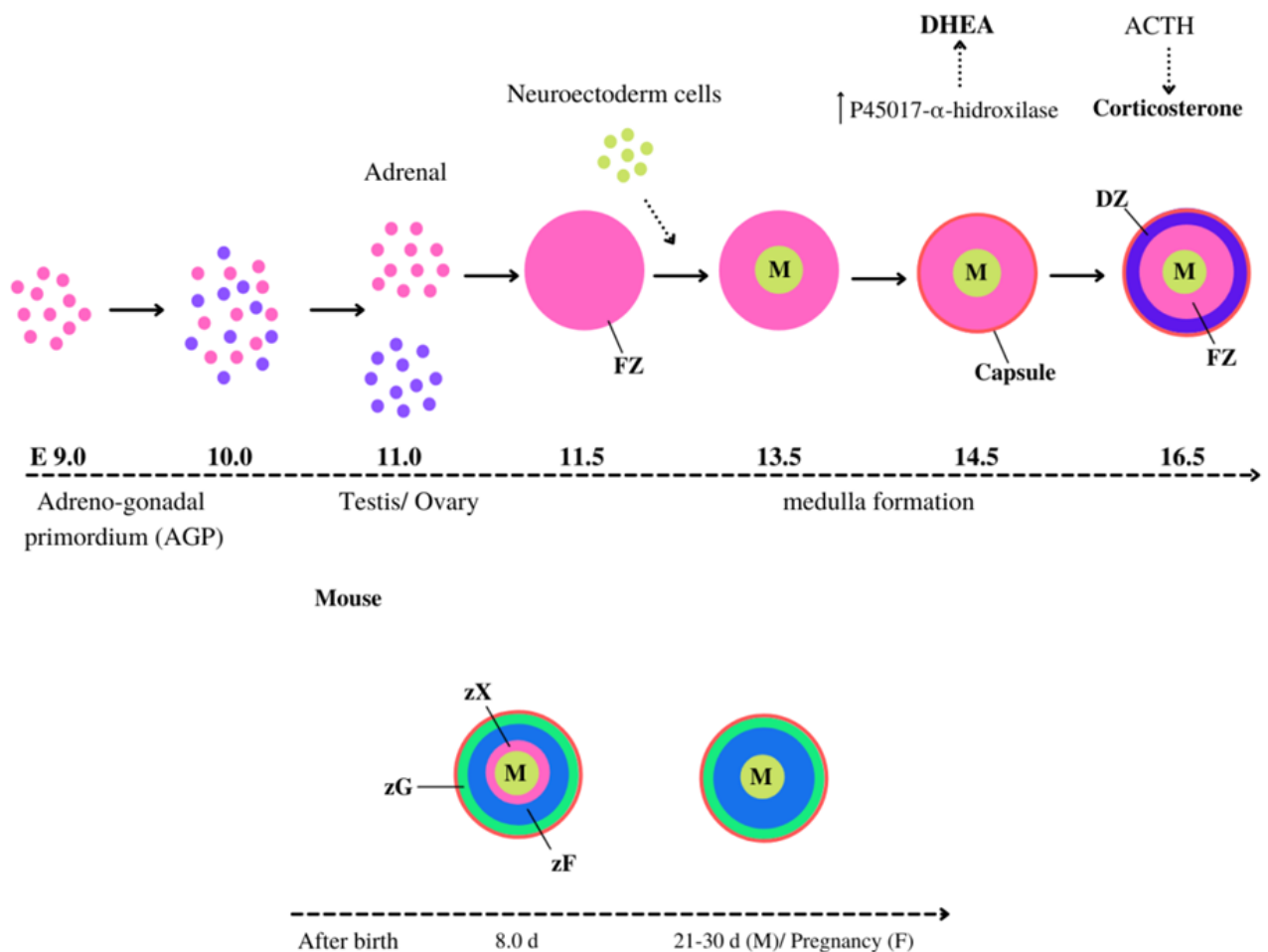
A ZG está localizada na parte mais externa, adjacente à região capsular e subcapsular da glândula, e é formada por grupos de células que contém núcleo esférico único e citoplasma acidófilo, e formam aglomerados arredondados, atualmente chamados de rosetas. Essas células são responsáveis pela produção e secreção de mineralocorticoides, que são hormônios envolvidos na homeostase dos eletrólitos do organismo, como a aldosterona, que atua na reabsorção de sódio e na excreção de potássio pelos rins. Essa zona é principalmente controlada pelo sistema renina-angiotensina, mas também é responsiva ao hormônio adrenocorticotrófico (ACTH).

A ZF corresponde por 75% de todo o volume do córtex adrenal e é formada por células poliédricas que apresentam grande quantidade de gotículas lipídicas. Essas células se organizam em colunas intercaladas por capilares perpendiculares à superfície da glândula, que se direcionam para a medula. O funcionamento das células que compõem a ZF é regulado pelo ACTH e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), que é responsável pela produção e secreção de glicocorticoides, como o cortisol em humanos e a corticosterona em ratos e camundongos. Esses hormônios estimulam a gliconeogênese, inibem a utilização de glicose pelos tecidos periféricos, aumentam a síntese de glicogênio e o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas.

A zona mais interna do córtex, a ZR, apresenta células menores com poucas gotículas lipídicas e formam uma rede. A ZR sintetiza em humanos, hormônios sexuais como, os andrógenos e estrogênios, porém em camundongos, pela ausência da enzima citocromo P450 17- $\alpha$ - hidroxilase, esses hormônios sexuais não são sintetizados, e, portanto, em camundongos não se reconhece uma ZR funcional (Keeney *et al.*, 1995).

## **1.2 O desenvolvimento da glândula adrenal**

O desenvolvimento da adrenal tem seu início na formação do primórdio adrenogonadal (AGP) bilateral. O AGP se forma através da condensação de células presentes no trato urogenital e no mesentério dorsal, por volta do dia 28-30 dias pós-concepção (dpc) no homem, e no camundongo por volta do 9º dia de vida embrionária (E9.0). Essa formação é marcada pela expressão do fator esteroideogênico 1 (SF-1/NR5A1), um receptor nuclear essencial para a esteroideogênese e desenvolvimento da adrenal (Hatano *et al.*, 1996). Após grande parte das células do AGP migrar dorso-lateralmente para formar o primórdio gonadal (GP), células com alta expressão de SF-1 migram dorso-medialmente para formar uma adrenal rudimentar, o primórdio adrenal (AP) ou adrenal fetal, que se instala definitivamente ventro-lateralmente à aorta dorsal (Morohashi & Zubair, 2011). Por volta de 48 dpc em humanos e entre E11.5-13.5 em camundongos, as células da crista neural migram para a região próxima da adrenal em desenvolvimento e se mantêm entremeadas na adrenal até próximo ao nascimento, quando se juntam e se diferenciam em células produtoras de catecolaminas, dando origem a medula adrenal (Le Douarin & Teillet, 1974; Doupe *et al.*, 1985). Concomitantemente, a glândula adrenal começa a se separar do mesênquima circundante e se torna encapsulada por células mesenquimais. Todo esse processo, representado na Figura 3, se completa por volta de 52 dpc em humanos e E14.5 em camundongos (Keegan & Hammer, 2002).



**Figura 3-** Desenvolvimento adrenal e das gônadas em camundongos. FZ= Zona Fetal; DZ= Zona Definitiva; zX= Zona X; zG= Zona Glomerulosa; zF= Zona Fasciculada; E= Fase Embrionária. Fonte: Xing *et al.*, (2015).

Após o encapsulamento, a adrenal fetal se expande rapidamente, e esse crescimento corresponde ao aumento da zona fetal (FZ), que ocupa 80% da glândula. Essas células expressam altos níveis do citocromo P45017-α-hidroxilase, (CYP17) que convertem a pregnenolona em dehidroepiandrosterona (DHEA). Altos níveis de DHEA e DHEA-S (sulfatada) serão convertidos pela placenta em estrogênios para a manutenção da gravidez (Mesiano & Jaffe, 1997). Nessa fase um tipo celular se diferencia entre a cápsula e a ZF formando a zona definitiva (ZD), que dará origem ao córtex adrenal adulto. A ZD é formada por células SF-1 positivas que formam aglomerados celulares basófilos compactos com baixos níveis de lipídios durante a gestação, e com características de um estado proliferativo (Hanley *et al.*, 2001). As células que formam a ZD se expandem em relação à FZ, de forma que ao final da gestação suas células iniciam a produção de cortisol em humanos e corticosterona



em ratos e camundongos, sob regulação do ACTH (Goto *et al.*, 2006).

Em humanos, logo após o nascimento a glândula adrenal sofre intensa remodelação com a apoptose da FZ, com a correspondente diminuição dos níveis de androgênios adrenais, e uma diferenciação progressiva da zona definitiva, que perdura entre 2-4 anos de idade, e que após essa idade resultará nas zonas fasciculada e glomerulosa (Seron-Ferre & Jaffe, 1981). Subsequentemente, por volta dos 6-8 anos em meninas e nos meninos entre 7-9 anos de idade, emerge a zona reticular (ZR) na região justaposta à medula. Seu aparecimento caracteriza a adrenação e o início da produção de androgênios adrenais, incluindo a produção de DHEA/DHEAS e androstenediona, o que leva ao desenvolvimento de pelos axilares e púbicos, e provavelmente a maturação do cérebro, além disso, aumento da proliferação celular dessa zona (Bird, 2012; Rege & Rainey, 2012; Seron-Ferre & Jaffe, 1981).

Defeitos nesse processo pode causar uma síndrome caracterizada por hipoplasia do córtex e insuficiência adrenal (Lalli, 2014). Além disso, durante o desenvolvimento da glândula adrenal, entre o final da gestação e o período pós-natal, algumas células da zona fetal parecem sobreviver devido a um processo de apoptose defeituoso, o que pode dar origem a tumores adrenocorticais pediátricos, que apresenta características do período embrionário (Boechat *et al.*, 2011).

Dentre os fatores que regulam o desenvolvimento fetal na adrenal, além do SF-1, os mais conhecidos e importantes são o receptor nuclear órfão DAX-1 (dosage-sensitive sex reversal adrenal hypoplasia critical region on chromosome X, gene 1, Nr0b1), o ACTH e o fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 2 (IGF2), além de outros hormônios.

Em camundongos, após o nascimento, é reconhecida uma zona transiente localizada adjacente à medula adrenal, a zona X (zX), que é derivada da FZ (Morohashi & Zubair, 2011). A zX desaparece na puberdade em camundongos machos (21-28 dias de vida) e durante a primeira gestação em camundongos fêmea (Holmes & Dickson, 1971; HersHKovitz *et al.*, 2007).

### **1.3 O Fator Esteroidogênico-1 (Ad4BP/SF1/NR5A1) nas adrenais e gônadas**

O receptor nuclear SF-1/NR5A1 é fundamental para a iniciação e diferenciação da adrenal fetal, além de ser um dos fatores responsáveis pela esteroidogênese

adrenal. Animais knockout para SF-1 apresentam agenesia adrenal (Luo *et al.*, 1994), o mesmo foi observado em humanos (El-Khairi *et al.*, 2011). Além disso, camundongos heterozigotos para SF-1 (SF-1<sup>+/-</sup>) apresentam retardo e desenvolvimento incompleto da glândula adrenal (Wong *et al.*, 1997). Por outro lado, a superexpressão de SF-1 resulta em aumento da proliferação e neoplasia na adrenal de camundongos (Doghman *et al.*, 2007).

Existem evidências de que a proteína WT1 (Wilms tumor 1) codificada pelo gene *Wt1* regula a expressão de SF-1 no AGP, enquanto a expressão de CITED2 (Cbp/P300- Interacting transactivator, with Glu/Asp-Rich carboxy-terminal domain, 2) é necessária para a diferenciação da AP ou da adrenal fetal (Val P *et al.*, 2007; Bandiera *et al.*, 2013).

Zubar e colaboradores (2006) identificaram um fator na adrenal fetal de camundongos denominado fetal adrenal-specific enhancer (FAdE) que é um mediador da expressão de Sf-1. O complexo de transcrição contendo Prep1 (homeobox protein PKNOX1), Hox9b (homeobox gene 9b) e Pbx1 (pre B-cell leukemia transcription factor 1) inicia a expressão de SF-1 mediada por FAdE, seguida por uma alça de autorregulação de SF-1 através da manutenção da expressão de FAdE na adrenal fetal. Depois de E14.5, o FAdE diminui a expressão, pois com o aparecimento da zona definitiva, a regulação de SF-1 é trocada, provavelmente, por um outro enhancer, que ainda não foi caracterizado em camundongos, e cujo processo todo ainda não foi confirmado na adrenal humana (Zubair *et al.*, 2008).

#### **1.4 O receptor nuclear órfão DAX-1 ou Nr0b1**

Na adrenal, o gene *Nr0b1* ou DAX-1 é um receptor nuclear órfão que inibe SF-1 e por consequência a transcrição dos genes esteroidogênicos (Ito *et al.*, 1997). DAX-1 é expresso na população de células progenitoras do córtex da adrenal e sua presença impede a diferenciação e permite a expansão das células progenitoras. Por outro lado, a ausência de DAX-1 em células esteroidogênicas, junto com a estimulação pelo ACTH, induz a diferenciação prematura das células progenitoras (Lalli & Sassone-Corsi, 2003). Além disso, DAX-1 pode reprimir a atividade de FAdE em glândulas adrenais de camundongo durante a transição da zona fetal para a zona definitiva (Zubair *et al.*, 2008). Estudos *in vivo* e *in vitro* estabeleceram uma função repressora sinérgica entre SUMOilação de SF-1 e de DAX-1 durante a interrupção

fisiológica da expressão de SF-1 mediada por FAdE, e na resultante regressão da ZX de camundongos, que ocorre na puberdade em camundongos machos e durante a primeira gestação nas fêmeas (Xing *et al.*, 2017).

### **1.5 O hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)**

Com a formação da zD, o ACTH atua no controle e regulação funcional do córtex da adrenal para a produção da corticosterona. ACTH é um hormônio peptídico de 39 amino ácidos cuja secreção pela adenohipófise é controlada pelo hormônio liberador de corticotrofina (CRH). O CRH é produzido no hipotálamo e estimula as células corticotróficas da adenohipófise a produzir um peptídeo precursor com 241 aminoácidos, a pró-opiomelanocortina (POMC), que após clivagem produz, dentre outros peptídeos, o ACTH. O ACTH se liga ao receptor de melanocortina do tipo 2 (MCR2), um receptor proteína-G assessorado pela proteína assessora do receptor de melanocortina (MRAP1) (Luo *et al.*, 2023), encontrado na membrana das células do córtex adrenal e que ativa a proteína quinase dependente de cAMP (PKA) e a via MAPK/ERK (Loffi *et al.*, 1997), o que desencadeia, respectivamente, a produção de corticosteroides e a proliferação celular. Os corticosteroides por sua vez inibem a produção da síntese e secreção do CRH no hipotálamo, e da POMC e do ACTH na hipófise, interrompendo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ou eixo HPA através de feedback negativo (Papadimitrio *et al.*, 2009).

Durante o 1º trimestre de gestação em humanos, a diferenciação e crescimento adrenal são independentes do ACTH. No entanto, a partir da 15ª semana, o ACTH regula o desenvolvimento morfológico e funcional do córtex, com a expansão da ZF e a produção de cortisol sobre controle do ACTH (Pepe & Albrecht, 1999). Além disso, o ACTH desempenha um importante papel na regulação esteroidogênica, diferenciação e crescimento celular da ZD (Simpson & Waterman, 1983).

### **1.6 O fator de crescimento insulina-like 2 (IGF-2)**

A ação do ACTH durante o desenvolvimento da adrenal ocorre parcialmente através da estimulação de fatores de crescimento, como IGF1-2, que são expressos no córtex adrenal (Coulter *et al.*, 1996). IGF-2 é mais expresso na glândula adrenal fetal enquanto o fator de crescimento insulina-like 1 (IGF-1) predomina na glândula

adulta. Embrião de camundongos com falta funcional da sinalização por insulina/IGF mantém AGP em estado indiferenciado e com completa agenesia da glândula adrenal (Pitetti *et al.*, 2013).

### **1.7 Outros fatores**

O Wilms supressor tumor (WT1) é um fator parácrino essencial para a diferenciação das células progenitoras em células esteroideogênicas durante o desenvolvimento da AGP, pois estimula a expressão de SF-1, o que resulta na diferenciação das células progenitoras em células esteroideogênicas. É através do controle da expressão de WT1, dos fatores de transcrição GATA4 (*GATA-Binding Factor 4*), de TCF21 (Transcription factor 21) e GLI1 (glioma-associated oncogene), efetor da via Sonic Hedgehog (SHh), que as células progenitoras/stem cells do córtex adrenal fornecem e mantem as células esteroideogênicas do córtex adrenal (Bandiera *et al.*, 2013).

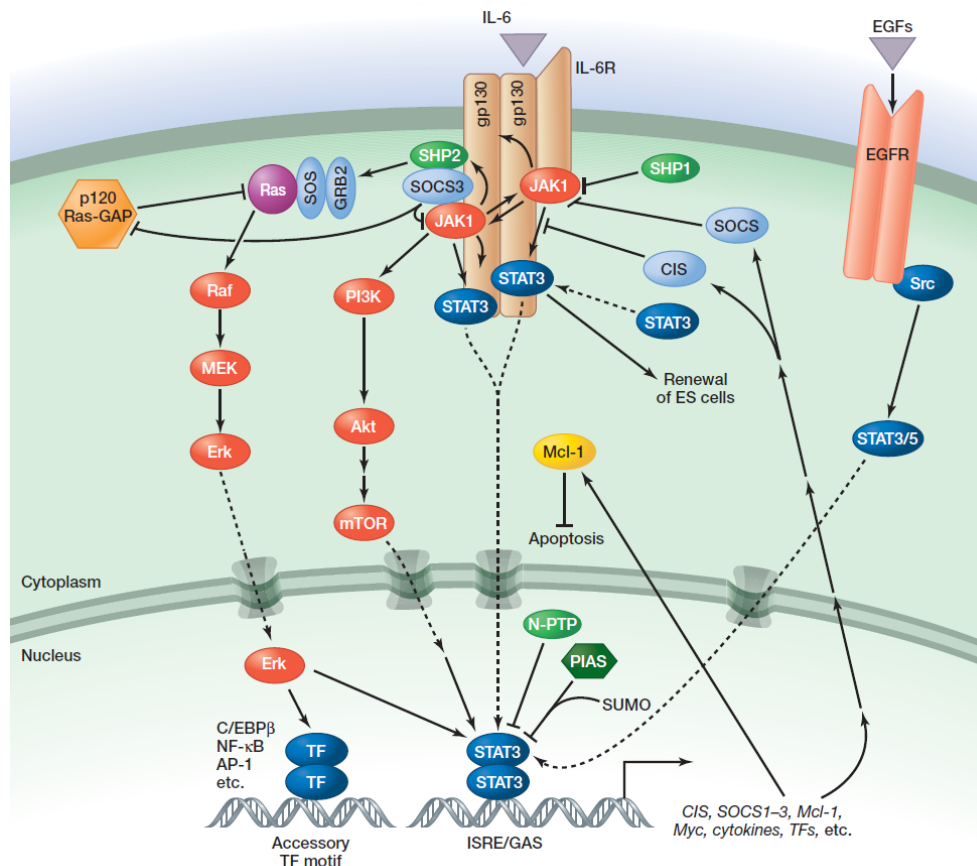
O Delta-like homolog 1 (Dlk1) também conhecido como fator pré-adipócitos-1 (PREF-1), é uma proteína transmembrana relacionados com a família Notch de moléculas de sinalização. Dlk1 foi identificado como um importante regulador do estado indiferenciado em pré-adipócitos. Posteriormente foi sugerido que a expressão de Dlk1 é regulada negativamente e não é restabelecida até a formação das zonas do córtex estar completa, o que indica que Dlk1 é um regulador negativo da diferenciação adrenocortical (Halder *et al.*, 1998). Em um trabalho recente, em que foram geradas células-like da zona fetal do córtex da adrenal humana, Dlk1 foi utilizado como marcador de superfície celular de linhagem adrenocortical precoce (Sakata *et al.*, 2022).

### **1.8 A via JAK/STAT**

A via Janus Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription (JAK/STAT) é uma via de sinalização regulada por citocinas e fatores de crescimento, relacionada com proliferação, diferenciação, migração celular e apoptose, cuja ativação depende do contexto celular (Harrison, 2012). JAK foi classificada como a única classe de tirosina quinase que contém um domínio catalítico e um domínio quinase-like com função auto regulatória. A associação do ligante extracelular com

seu receptor resulta em dimerização do receptor que leva a auto fosforilação de JAK. JAK ativado fosforila os domínios citoplasmáticos do receptor que fornecerá os sítios para encaixe das STATs. STAT fosforilado se dissocia do receptor, se dimeriza e migra para o núcleo, aonde interage com vários elementos regulatórios que induzem a expressão de genes alvos (Darnell, 1997).

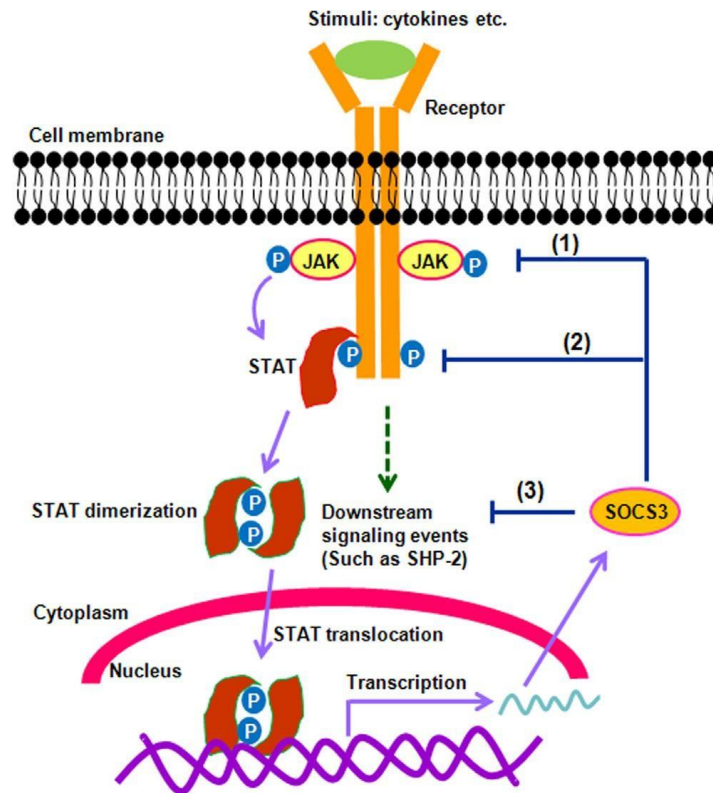
Em mamíferos existem 4 membros da família JAK e 7 membros da família STAT, e diferentes JAKs e STATs são recrutadas dependendo do tecido e dos receptores engajados no evento de sinalização (Schindler & Plumlee, 2008). A sinalização JAK/STAT é essencial para vários processos de desenvolvimento e homeostase, que incluem manutenção de células tronco, crescimento em geral e desenvolvimento do sistema imunológico e da glândula mamária através da ação da prolactina (Ghoreschi *et al.*, 2009). Embora a via JAK/STAT canônica seja simples e direta, componentes de outras vias de sinalização regulam e são regulados, incluindo MAPK/ERK, PI3K e outras (Figura 4).



**Figure 4-** A via de sinalização JAK/STAT e suas interações com outras vias como MAPK e PI3K (fonte: Harrison, 2012- Cold Spring Harb Perspect Biol 2012;4:a011205).

## 1.9 SOCS3

A sinalização JAK/STAT é regulada em vários níveis para evitar uma presença prolongada das citocinas, o que pode resultar em inflamação, proliferação aberrante e tumorigênese. Os reguladores primários são as proteínas da família Supressor of Cytokines Signalling Proteins (SOCs) (Nicola & Greenhalgh CJ, 2000). SOCS são proteínas intracelulares induzidas por citocinas que regulam a via JAK/STAT em vários tipos e contextos celulares. A família SOCs é constituída por 8 membros, SOCS1-SOCS7 e pela proteína de homologia 2 de Src induzível por citocinas (CIS). Esse grupo de proteínas compartilha estruturas similares: um domínio SH2 central, uma região C-terminal conservada (SOCS box) e um domínio N-terminal de tamanho e sequencia variados. SOCS1 e SOCS3 têm mais uma região, que é uma região quinase inibitória (KIR), que permite uma interação direta e inibição da atividade catalítica de JAKs (Babon & Nicola, 2012). A região SOCS box compreende 40 aminoácidos e é a região de recrutamento de componentes E3 ligase usado para degradação de proteínas. As proteínas SOCS são induzidas por IL-1 (Interleucina -1) e TNF-alfa (Fatores de Necrose Tumoral Alfa), fatores de crescimento e lipopolisacarídeos (LPS), que depois atuam, via uma alça de retroalimentação negativa, inibindo a sinalização desencadeada (Figura 5). SOCS3 bloqueia a sinalização JAK/STAT por 3 diferentes mecanismos: 1) através da ligação direta com as JAKs no domínio SH2, o que inibe sua atividade; 2) através da ligação ao receptor, o que impede o recrutamento das proteínas STATs e 3) através da ubiquitinação de JAK, o que causa sua instabilidade e degradação (Mahony *et al.*, 2016).



**Figura 5-** Indução da proteína SOCS pela sinalização JAK/STAT e regulação negativa de SOCS3 (Yin *et al.*, 2015).

O SOCS3 é um regulador de STAT3 bem caracterizado na resposta a várias citocinas, incluindo aqueles da família de receptores IL-6 contendo gp130, no entanto, pode inibir também STAT1, STAT4, STAT5 e STAT6 (Mahony *et al.*, 2016). SOCS1 e SOCS3 também inibem outras vias de sinalização, como as vias MAPK/ERK, PI3K/mTOR, FAK (focal adhesion kinase) e NF-kappa B, como mostrado na Figura 4. Evidências crescentes implicam SOCS3 em vários processos patológicos como nas doenças imunes, diabetes, doenças infecciosas e oncogênese, o que a identifica como uma proteína chave em vários processos intracelulares e eventos patológicos, incluindo a diferenciação celular (Mahony *et al.*, 2016; Yin *et al.*, 2015).

### 1.10 SOCS3 e o eixo HPA

*In vivo* e em cultura de células de corticotrofos, células AtT-20, SOCS3 funciona como um regulador intracelular da expressão de POMC e da secreção de ACTH, inibindo a via JAK/STAT estimulada pelo fator inibidor de leucemia (LIF), atuando, portanto, como um mediador da função do eixo HPA (Auernhammer & Melmed, 2001).

SOCS3 está também relacionado com a resistência a leptina e a insulina, e com obesidade, pois o aumento da expressão de SOCS3 em neurônios POMC, considerados anorexígenos, é suficiente para causar resistência a leptina e obesidade (Reed *et al.*, 2010). Por outro lado, camundongos deficientes neurais em SOCS3 mostraram aumento da leptina induzida por STAT3 fosforilado, bem como a indução de POMC, o que resultou em perda de peso corpóreo e supressão da ingestão de alimentos (Mori *et al.*, 2004). Por outro lado, a inativação de SOCS3 somente em células que expressam o receptor de leptina (LepR) protege contra resistência à leptina induzida por dieta rica em lipídeos, mas não previne a obesidade induzida pela dieta (Pedroso *et al.*, 2014).

Em ovelhas, o hormônio de crescimento (GH) e prolactina (PRL) promovem aumento da adrenal e estimulam a esteroidogênese através da via JAK/STAT/SOCS (Cecim *et al.*, 1991; Silva *et al.*, 2004; Glasow *et al.*, 1996). A administração de PRL aumenta significativamente a expressão do mRNA de SOCS3 de adrenais de camundongos adultos, de fetos de ovelhas e células adrenocorticais fetais em cultura (Gentili *et al.*, 2006; Tam *et al.*, 2001). Em um modelo de transferência de embrião em ovelha para estudar o impacto de restrição da dieta materna durante o período de preconcepção, que induz um aumento do crescimento da adrenal, mostrou que a perda de peso nesse período resulta na ativação da via JAK/STAT e em hipertrofia do córtex adrenal. Nesse modelo de estudo ocorreu hipertrofia da zona fasciculada e reticular, aumento de STAT1, P-STAT1 e P-STAT3 (ser727) e diminuição do receptor de IGF-1, Akt e P-Akt no córtex de adrenal de ovelhas no período pós-natal (Zhang *et al.*, 2013).

Outro trabalho em glândula adrenal fetal de ovelhas investigou o papel de SOCS3, que é tido como inibidor do crescimento da adrenal fetal entre os dias de gestação 50-145 e no período de gestação tardia, que é o período de restrição de crescimento da adrenal (Tangalakis *et al.*, 1994). Como SOCS3 é ativado por PRL, foi investigado se a administração de PRL, *in vivo* e *in vitro*, estimula a expressão de mRNA de SOCS3 na adrenal fetal durante a gestação tardia (Gentili *et al.*, 2006). Houve uma diminuição da expressão de SOCS3 entre os dias 54-133 e 141-144 de gestação. A supressão fetal de PRL por infusão de um agonista dopaminérgico não diminuiu a expressão de SOCS3 da adrenal fetal. No entanto, a administração de PRL aumentou a expressão de SOCS3 *in vivo* e em células adrenocorticais *in vitro*. Portanto, a diminuição na expressão de SOCS3 depois de 133 dias de gestação



poderia ser permissivo para um aumento subsequente da adrenal fetal antes do nascimento. Em conclusão, outros fatores diferentes de PRL devem atuar para manter a expressão de SOCS3 antes dos 133 dias de gestação, mas uma elevação aguda de PRL pode atuar aumentando a expressão de SOCS3 no feto de ovelha durante a gestação tardia. Apesar de esses trabalhos mostrarem a relação entre SOCS3 e o desenvolvimento da glândula adrenal fetal, pouco se sabe sobre sua participação e importância na diferenciação celular do córtex adrenal pós-natal.

### **1.11 Outras vias de sinalização envolvidas no desenvolvimento e renovação do córtex adrenal**

As vias de sinalização Sonic hedgehog (Shh), Wnt/ $\beta$ -catenina (Wnt), do fator de crescimento insulina-like (IGF2) e PKA/cAMP desempenham papéis importantes tanto no desenvolvimento embrionário quanto na homeostase e em patologias adrenocorticais. Além disso, a interação dessas vias é essencial para a renovação e diferenciação das células que compõem do córtex adrenal.

O córtex adrenal é envolto por uma capsula de tecido mesenquimal contendo células progenitoras ou *stem cells* que sinalizam e se diferenciam para dar origem as células da zona glomerulosa (ZG) e zona fasciculada (ZF). Dentre essas células localizadas na porção mais externa, contém populações distintas de células-tronco multipotentes, podendo expressar GLI+ e WT1+, que são capazes de se diferenciar em esteroidogênicas futuramente (Hammer & Basham, 2020).

A via Wnt/ $\beta$ -catenina (Wnt) tem se mostrado essencial nesses processos, sendo a principal impulsionadora da renovação centrípeta homeostática através da interação também com ligantes da via SHH. Ativação da sinalização Wnt é restrita à região mais externa do córtex adrenal aonde promove diferenciação da ZG e consequentemente a produção de aldosterona (Walczak *et al.*, 2014; Berthon *et al.*, 2014). Essas células da ZG se deslocam centripetamente e a via Wnt precisa ser inibida para a conversão das células da ZG em células da ZF (Drelon *et al.*, 2016).

Na região subcapsular estão localizadas as células progenitoras SHH+. Após a ligação de SHH no receptor transmembrana Patched-1 (PTCH1), a transdução de sinal intracelular estimula a transcrição GLI1, que é um ativador de transcrição (Pihlajoki *et al.*, 2015; Hammer & Basham, 2020). SHH controla a expressão de GLI, sendo regulado positivamente através da ativação da via de sinalização SHH.

Portanto, na ausência de SHH, o fator GLI não é expresso (Vokes *et al.*, 2007). Com isso, foi demonstrado que a interação entre as células SHH+ e GLI1+ coordena a via de sinalização SHH e Wnt/ $\beta$ -catenina por um mecanismo de sinalização duplo parácrino (Vidal *et al.*, 2016).

A ativação restrita da via Wnt na região mais externa do córtex é em parte mantida pela presença da R-Spondin 3 (RSPO3) na cápsula e necessária para a formação da ZG e ativação da via PKA na ZF, que reprime a via Wnt nessa zona (Vidal *et al.*, 2016; Drelon *et al.*, 2016). Quando essa inibição da via Wnt é perdida em camundongos que apresentam a via Wnt constitutiva ocorre uma expansão da ZG com consequente aumento da aldosterona e não diferenciação da ZF (Berthon *et al.*, 2010).

ZNRF3 (zinc and ring finger 3) e seu homólogo RNF43 (ring finger protein 43) são reguladores negativos da sinalização Wnt (Fearon and Spence 2012). Quando ZNRF3 e RNF43 são induzidos eles promovem a endocitose do receptor Frizzled (FZD), receptor do ligante Wnt (Hao *et al.*, 2012). RSPO regula a atividade de ZNRF3/RNF43 promovendo sua remoção da membrana plasmática, portanto RSPO neutraliza os efeitos negativos de ZNRF3/RNF43 na via Wnt. Foi mostrado que a perda de ZNRF3 é altamente dependente da via Wnt, pois aumenta sua atividade nas zonas mais internas da adrenal e leva à hiperplasia adrenocortical (Bashan *et al.*, 2019). Em conjunto essas observações sugerem que a via Wnt deve ser finamente regulada para manter tanto a zonação adrenocortical quanto a esteroidogênese, juntamente com a via PKC/cAMP.

## 2. CONCLUSÃO

Nesse estudo concluímos que:

os camundongos SF-1/SOCS3 KO apresentaram depleção do gene SOCS3 em tecidos recombinantes Cre/SF-1, como as glândulas adrenais e testículos.

a via JAK/STAT parece estar mais ativada no modelo de camundongos SF-1/SOCS3 KO, provavelmente pela falta do gene SOCS3, inibidor dessa via.

a zX não apresentou regressão nos camundongos SF-1/SOCS3 KO em machos e fêmeas (virgens e após a primeira gestação), independente da idade analisada.

a não regressão da zX observada nos camundongos SF-1/SOCS3 KO pode estar relacionada à persistência da expressão do *enhancer* de SF-1, o gene *FAdE*.

a ausência do gene SOCS3 altera a expressão de genes que atuam na diferenciação/ renovação do córtex adrenal, como a diminuição de *Dlk-1* e *Wnt4* e aumento de *FGFR2*, *Nr5a1* (*SF-1*) e *Nr0b1* (*DAX-1*), *Gli1*.

a expressão de SOCS3 em cultura de células de adrenal de camundongos SF-1/SOCS3 KO diminuiu a expressão do gene *FAdE* e de outros genes envolvidos com a diferenciação/renovação do córtex adrenal, por um mecanismo ainda não desvendado.

## REFERÊNCIAS\*

ALBRECHT, E.D., PEPE, GJ. Central integrative role of oestrogen in modulating the communication between the placenta and fetus that results in primate fetal-placental development. **Placenta**, v. 20, n. 2-3, p. 129-139, 1999.

ALEXANDER, W.S., HILTON, D.J. The role of suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins in regulation of the immune response. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 22, p. 503-529, 2004.

AUERNHAMMER, C.J. et al. The central role of SOCS-3 in integrating the neuro-immunoendocrine interface. **The Journal of clinical investigation**, v. 108, n. 12, p. 1735-1740, 2001.

BABON, J.J., NICOLA, N. A. The biology and mechanism of action of suppressor of cytokine signaling 3. **Growth factors**, v. 30, n. 4, p. 207-219, 2012.

BANDIERA, R., VIDAL. V.P. et al. WT1 maintains adrenal-gonadal primordium identity and marks a population of AGP-like progenitors within the adrenal gland. **Developmental cell**, v. 27, n. 1, p. 5-18, 2013.

BIELOHUBY, M., et al. Growth analysis of the mouse adrenal gland from weaning to adulthood: time-and gender-dependent alterations of cell size and number in the cortical compartment. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 2007.

BERTHON, A., et al. Constitutive  $\beta$ -catenin activation induces adrenal hyperplasia and promotes adrenal cancer development. **Human molecular genetics**, v. 19, n. 8, p. 1561-1576, 2010.

BERTHON, A., et al. WNT/ $\beta$ -catenin signalling is activated in aldosterone-producing adenomas and controls aldosterone production. **Human molecular genetics**, v. 23, n. 4, p. 889-905, 2014.

BIRD, I.M., In the zone: understanding zona reticularis function and its transformation by adrenarache. **The Journal of endocrinology**, v. 214, n. 2, p. 109-111, 2012.

BOECHAT, G.A.P. et al. Placental alkaline phosphatase in pediatric adrenocortical cancer. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 33, n. 4, p. e149-e153, 2011.

CALLOW, R.K., DEANESLY, R. Effect of androsterone and of male hormone concentrates on the accessory reproductive organs of castrated rats, mice and guinea-pigs. **Biochemical Journal**, v. 29, n. 6, p. 1424, 1935.

COULTER, CATHERINE L. et al. Functional maturation of the primate fetal adrenal in vivo: I. Role of insulin-like growth factors (IGFs), IGF-I receptor, and IGF binding proteins in growth regulation. **Endocrinology**, v. 137, n. 10, p. 4487-4498, 1996.

DARNELL JR, J.E. STATs and gene regulation. **Science**, v. 277, n. 5332, p. 1630-1635, 1997.

DOGHMAN, M. et al. Increased steroidogenic factor-1 dosage triggers adrenocortical cell proliferation and cancer. **Molecular Endocrinology**, v. 21, n. 12, p. 2968-2987, 2007.

DOUPE, A.J., LANDIS, S.C. PATTERSON, Paul H. Environmental influences in the development of neural crest derivatives: glucocorticoids, growth factors, and chromaffin cell plasticity. **Journal of Neuroscience**, v. 5, n. 8, p. 2119-2142, 1985.

DRELON, C. et al. Analysis of the role of Igf2 in adrenal tumour development in transgenic mouse models. 2012.

DRELON, C. et al. Adrenal cortex tissue homeostasis and zonation: a WNT perspective. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 408, p. 156-164, 2015.

DRELON, C. et al. PKA inhibits WNT signalling in adrenal cortex zonation and prevents malignant tumour development. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 12751, 2016.

DUMONTET, T. et al. PKA signaling drives reticularis differentiation and sexually dimorphic adrenal cortex renewal. **JCI insight**, v. 3, n. 2, 2018.

EL-KHAIRI, R. et al. Role of DAX-1 (NR0B1) and steroidogenic factor-1 (NR5A1) in human adrenal function. **Pediatric Adrenal Diseases**, v. 20, p. 38-46, 2011.

FALIX, F.A. et al. Possible roles of DLK1 in the Notch pathway during development and disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1822, n. 6, p. 988-995, 2012.

FINCO, I., LERARIO, A.M., HAMMER, G.D. Sonic hedgehog and WNT signaling promote adrenal gland regeneration in male mice. **Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 579-596, 2018.

FINCO, I. et al. Regulation of stem and progenitor cells in the adrenal cortex. **Current opinion in endocrine and metabolic research**, v. 8, p. 66-71, 2019.

FEARON, E.R., SPENCE, J.R. Cancer biology: a new RING to Wnt signaling. **Current Biology**, v. 22, n. 19, p. R849-R851, 2012.

FREEDMAN, B. D. et al. Adrenocortical zonation results from lineage conversion of differentiated zona glomerulosa cells. **Developmental cell**, v. 26, n. 6, p. 666-673, 2013.

GENTILI, S. et al. Prolactin and the expression of suppressor of cytokine signaling-3 in the sheep adrenal gland before birth. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 5, p. R1399-R1405, 2006.

GLASOW, A. et al. Functional aspects of the effect of prolactin (PRL) on adrenal steroidogenesis and distribution of the PRL receptor in the human adrenal gland. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 81, n. 8, p. 3103-3111, 1996.

GHORESCHI, K., LAURENCE, A., O'SHEA, J.J. Janus kinases in immune cell signaling. **Immunological reviews**, v. 228, n. 1, p. 273-287, 2009.

GOTO, M. et al. In humans, early cortisol biosynthesis provides a mechanism to safeguard female sexual development. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 4, p. 953-960, 2006.

GRABEK, A. et al. The adult adrenal cortex undergoes rapid tissue renewal in a sex-specific manner. **Cell stem cell**, v. 25, n. 2, p. 290-296. e2, 2019.

GRUENWALD, P. Embryonic and postnatal development of the adrenal cortex, particularly the zona glomerulosa and accessory nodules. **The Anatomical Record**, v. 95, n. 4, p. 391-421, 1946.

GUASTI, L. et al. Localization of Sonic hedgehog secreting and receiving cells in the developing and adult rat adrenal cortex. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 336, n. 1-2, p. 117-122, 2011.

GUASTI, L. et al. Dlk1 up-regulates Gli1 expression in male rat adrenal capsule cells through the activation of  $\beta$ 1 integrin and ERK1/2. **Endocrinology**, v. 154, n. 12, p. 4675-4684, 2013.. A

GUASTI, L. et al. FGF signalling through Fgfr2 isoform IIIb regulates adrenal cortex development. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 371, n. 1-2, p. 182-188, 2013..B

HADJIDEMETRIOU, I. et al. DLK1/PREF1 marks a novel cell population in the human adrenal cortex. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 193, p. 105422, 2019.

HALDER, S.K. et al. Cloning of a membrane-spanning protein with epidermal growth factor-like repeat motifs from adrenal glomerulosa cells. **Endocrinology**, v. 139, n. 7, p. 3316-3328, 1998.

HAMMER, G.D., BASHAM, K.J. Stem cell function and plasticity in the normal physiology of the adrenal cortex. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 519, p. 111043, 2021.

HAO, H.X., JIANG, X., CONG, F. Control of Wnt receptor turnover by R-spondin-ZNRF3/RNF43 signaling module and its dysregulation in cancer. **Cancers**, v. 8, n. 6, p. 54, 2016.

HARRISON, D.A. The jak/stat pathway. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 4, n. 3, p. a011205, 2012.

HATANO, O. et al. Identical origin of adrenal cortex and gonad revealed by expression profiles of Ad4BP/SF-1. **Genes to Cells**, v. 1, n. 7, p. 663-671, 1996.

HANLEY, N.A. et al. Expression profiles of SF-1, DAX1, and CYP17 in the human fetal adrenal gland: potential interactions in gene regulation. **Molecular endocrinology**, v. 15, n. 1, p. 57-68, 2001.

HEIKKILÄ, M. et al. Wnt-4 deficiency alters mouse adrenal cortex function, reducing aldosterone production. **Endocrinology**, v. 143, n. 11, p. 4358-4365, 2002.

HERSHKOVITZ, L. et al. Adrenal 20 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the mouse catabolizes progesterone and 11-deoxycorticosterone and is restricted to the X-zone. **Endocrinology**, v. 148, n. 3, p. 976-988, 2007.

HOLMES, P.V., DICKSON, A.D. X-zone degeneration in the adrenal glands of adult and immature female mice. **Journal of anatomy**, v. 108, n. Pt 1, p. 159, 1971.

HOWARD, E. The effect of adrenalectomy on the accessory reproductive glands of mice castrated for short periods. **Endocrinology**, v. 38, n. 3, p. 156-164, 1946.

HUDAK, C.S., SUL, H.S. Pref-1, a gatekeeper of adipogenesis. **Frontiers in endocrinology**, v. 4, p. 79, 2013.

ISHIMOTO, H., JAFFE, R.B. Development and function of the human fetal adrenal cortex: a key component in the feto-placental unit. **Endocrine reviews**, v. 32, n. 3, p. 317-355, 2011.

ITO, M., YU, Ri., JAMESON, J.L. DAX-1 inhibits SF-1-mediated transactivation via a carboxy-terminal domain that is deleted in adrenal hypoplasia congenita. **Molecular and cellular biology**, v. 17, n. 3, p. 1476-1483, 1997.

KARTERIS, E. et al. Expression and coupling characteristics of the CRH and orexin type 2 receptors in human fetal adrenals. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 9, p. 4512-4519, 2001.

KEEGAN, C. E., HAMMER, G.D. Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 13, n. 5, p. 200-208, 2002.

KEENEY, D.S., JENKINS, C.M., WATERMAN, M.R. Developmentally regulated expression of adrenal 17  $\alpha$ -hydroxylase cytochrome P450 in the mouse embryo. **Endocrinology**, v. 136, n. 11, p. 4872-4879, 1995.

KIM, Y. et al. Fibroblast growth factor receptor 2 regulates proliferation and Sertoli differentiation during male sex determination. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 42, p. 16558-16563, 2007.



KIM, A.C. et al. Targeted disruption of  $\beta$ -catenin in Sf1-expressing cells impairs development and maintenance of the adrenal cortex. 2008.

KING, P., PAUL, A., LAUFER, E. Shh signaling regulates adrenocortical development and identifies progenitors of steroidogenic lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 50, p. 21185-21190, 2009.

LAASST, V.A. et al. Distinguishing cystic degeneration from other aging lesions in the adrenal cortex of Sprague-Dawley rats. **Toxicologic Pathology**, v. 42, n. 5, p. 823-829, 2014.

LALLI, E., SASSONE-CORSI, P. DAX-1, an unusual orphan receptor at the crossroads of steroidogenic function and sexual differentiation. **Molecular Endocrinology**, v. 17, n. 8, p. 1445-1453, 2003.

LALLI, E. Role of orphan nuclear receptor DAX-1/NR0B1 in development, physiology, and disease. **Advances in Biology**, v. 2014, 2014..

LERARIO, A.M. et al. Molecular mechanisms of stem/progenitor cell maintenance in the adrenal cortex. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, p. 52, 2017.

LE DOUARIN, N.M., TEILLET, M.M. Experimental analysis of the migration and differentiation of neuroblasts of the autonomic nervous system and of neurectodermal mesenchymal derivatives, using a biological cell marking technique. **Developmental biology**, v. 41, n. 1, p. 162-184, 1974.

LI, V.S.W et al. Wnt signaling through inhibition of  $\beta$ -catenin degradation in an intact Axin1 complex. **Cell**, v. 149, n. 6, p. 1245-1256, 2012.

LOTFI, C.F.P. et al. Unmasking a growth-promoting effect of the adrenocorticotrophic hormone in Y1 mouse adrenocortical tumor cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 47, p. 29886-29891, 1997.

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, n. 4, p. 481-490, 1994.

LYRAKI, R., SCHEDL, A. Adrenal cortex renewal in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 7, p. 421-434, 2021.

MAHONY, R. et al. SOCS3 revisited: a broad regulator of disease, now ready for therapeutic use?. **Cellular and molecular life sciences**, v. 73, p. 3323-3336, 2016.

MATTOS, G.E., LOTFI, C.F.P. Differences between the growth regulatory pathways in primary rat adrenal cells and mouse tumor cell line. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 245, n. 1-2, p. 31-42, 2005.

MATTOS, G.E. et al. Comparative effect of FGF2, synthetic peptides 1-28 N-POMC and ACTH on proliferation in rat adrenal cell primary cultures. **Cell and tissue research**, v. 345, p. 343-356, 2011.

MEHLEM, A. et al. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. **Nature protocols**, v. 8, n. 6, p. 1149-1154, 2013.

DE MENDONCA, P.O.R., COSTA, I.C., LOTFI, C.F.P. The involvement of Nek2 and Notch in the proliferation of rat adrenal cortex triggered by POMC-derived peptides. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e108657, 2014.

MESIANO, S., JAFFE, R.B. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. **Endocrine reviews**, v. 18, n. 3, p. 378-403, 1997.

MORI, H. et al. Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. **Nature medicine**, v. 10, n. 7, p. 739-743, 2004.

MOROHASHI, K., ZUBAIR, M. The fetal and adult adrenal cortex. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 336, n. 1-2, p. 193-197, 2011.

MOSSAHEBI-MOHAMMADI, M. et al. FGF signaling pathway: a key regulator of stem cell pluripotency. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 8, p. 79, 2020.

NICOLA, N.A., GREENHALGH, C.J. The suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins: important feedback inhibitors of cytokine action. **Experimental hematology**, v. 28, n. 10, p. 1105-1112, 2000.

NUSSE, R., CLEVERS, H. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. **Cell**, v. 169, n. 6, p. 985-999, 2017.

PAPADIMITRIOU, A., PRIFTIS, K.N. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Neuroimmunomodulation**, v. 16, n. 5, p. 265-271, 2009.

PEDROSO, J.A.B et al. Inactivation of SOCS3 in leptin receptor-expressing cells protects mice from diet-induced insulin resistance but does not prevent obesity. **Molecular metabolism**, v. 3, n. 6, p. 608-618, 2014.

PEDROSO, J.A.B. et al. SOCS3 expression in SF1 cells regulates adrenal differentiation and exercise performance. **J Endocrinol**, v. 235, n. 3, p. 207-222, 2017.

PITETTI, J.L et al. Insulin and IGF1 receptors are essential for XX and XY gonadal differentiation and adrenal development in mice. **PLoS genetics**, v. 9, n. 1, p. e1003160, 2013.

RAMOS-LOBO, A.M. et al. SOCS3 ablation in SF1 cells causes modest metabolic effects during pregnancy and lactation. **Neuroscience**, v. 365, p. 114-124, 2017.

REED, A.S. et al. Functional role of suppressor of cytokine signaling 3 upregulation in hypothalamic leptin resistance and long-term energy homeostasis. **Diabetes**, v. 59, n. 4, p. 894-906, 2010.

REGE, J., RAINEY, W.E. The steroid metabolome of adrenarche. **Journal of Endocrinology**, v. 214(2) p. 133-143, 2012.

REVEST, J.M et al. Fibroblast growth factor receptor 2-IIIb acts upstream of Shh and Fgf4 and is required for limb bud maintenance but not for the induction of Fgf8, Fgf10, Msx1, or Bmp4. **Developmental biology**, v. 231, n. 1, p. 47-62, 2001.

SAKATA, Y. et al. Reconstitution of human adrenocortical specification and steroidogenesis using induced pluripotent stem cells. **Developmental Cell**, v. 57, n. 22, p. 2566-2583. e8, 2022.

SCHINDLER, C., PLUMLEE, C. Interferons and the JAK-STAT pathway. In: Seminars in cell & developmental biology. **Academic Press**, 2008. p. 311-318.

SERON-FERRE, M., JAFFE, R.B. The fetal adrenal gland. **Annual review of physiology**, v. 43, n. 1, p. 141-162, 1981.

SILVA, E. J. et al. Prolactin induces adrenal hypertrophy. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 37, p. 193-199, 2004.

SIMPSON, E.R., WATERMAN, M.R. Regulation by ACTH of steroid hormone biosynthesis in the adrenal cortex. **Canadian journal of biochemistry and cell biology**, v. 61, n. 7, p. 692-707, 1983.

SIRIANNI, R. et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 9, p. 5393-5400, 2005.

SUL, H.S. Minireview: Pref-1: role in adipogenesis and mesenchymal cell fate. **Molecular endocrinology**, v. 23, n. 11, p. 1717-1725, 2009.

TAM, S.P. et al. Tissue-specific induction of SOCS gene expression by PRL. **Endocrinology**, v. 142, n. 11, p. 5015-5026, 2001.

TANGALAKIS, K. et al. Regulation of steroid hydroxylase gene expression in the ovine fetal adrenal gland at 0.4 gestation. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 103, n. 1-2, p. 21-27, 1994.

TORRES, T.E.P., LOTFI, C.F.P. Distribution of cells expressing Jun and Fos proteins and synthesizing DNA in the adrenal cortex of hypophysectomized rats: regulation by ACTH and FGF2. **Cell and Tissue Research**, v. 329, n. 3, p. 443-455, 2007.

VAL, P. et al. SF-1 a key player in the development and differentiation of steroidogenic tissues. **Nuclear Receptor**, v. 1, p. 1-23, 2003.

VAL, P., MARTINEZ-BARBERA, J.P., SWAIN, A. Adrenal development is initiated by Cited2 and Wt1 through modulation of Sf-1 dosage. 2007.

VIDAL, V. et al. The adrenal capsule is a signaling center controlling cell renewal and zonation through Rspo3. **Genes & development**, v. 30, n. 12, p. 1389-1394, 2016.

VOKES, S.A. et al. Genomic characterization of Gli-activator targets in sonic hedgehog-mediated neural patterning. 2007.

WALCZAK, E.M. et al. Wnt signaling inhibits adrenal steroidogenesis by cell-autonomous and non-cell-autonomous mechanisms. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 9, p. 1471-1486, 2014.

WONG, M. et al. Steroidogenic factor 1 plays multiple roles in endocrine development and function. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 52, p. 167-82; discussion 182, 1997.

WOOD, M.A. et al. Fetal adrenal capsular cells serve as progenitor cells for steroidogenic and stromal adrenocortical cell lineages in *M. musculus*. **Development**, v. 140, n. 22, p. 4522-4532, 2013.

XING, Y. et al. Development of adrenal cortex zonation. **Endocrinology and Metabolism Clinics**, v. 44, n. 2, p. 243-274, 2015.

XING, Y. et al. Timing of adrenal regression controlled by synergistic interaction between Sf1 SUMOylation and Dax1. **Development**, v. 144, n. 20, p. 3798-3807, 2017.

YASUKAWA, H. et al. IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages. **Nature immunology**, v. 4, n. 6, p. 551-556, 2003.

YIN, Y., LIU, W., DAI, Y. SOCS3 and its role in associated diseases. **Human immunology**, v. 76, n. 10, p. 775-780, 2015.

ZHANG, S. et al. Maternal dietary restriction during the periconceptional period in normal-weight or obese ewes results in adrenocortical hypertrophy, an up-regulation of the JAK/STAT and down-regulation of the IGF1R signaling pathways in the adrenal of the postnatal lamb. **Endocrinology**, v. 154, n. 12, p. 4650-4662, 2013.

ZUBAIR, M. et al. Two-step regulation of Ad4BP/SF-1 gene transcription during fetal adrenal development: initiation by a Hox-Pbx1-Prep1 complex and maintenance via autoregulation by Ad4BP/SF-1. **Molecular and cellular biology**, v. 26, n. 11, p. 4111-4121, 2006.

ZUBAIR, M., PARKER, K.L.; MOROHASHI, K. Developmental links between the fetal and adult zones of the adrenal cortex revealed by lineage tracing. **Molecular and cellular biology**, v. 28, n. 23, p. 7030-7040, 2008.

ZUBAIR, M. et al. Transgenic expression of Ad4BP/SF-1 in fetal adrenal progenitor cells leads to ectopic adrenal formation. **Molecular Endocrinology**, v. 23, n. 10, p. 1657-1667, 2009.