

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τμήμα Ιατρικής Σχολής

ΠΜΣ:

Η Επιστήμη του Στρες και η Προαγωγή της Υγείας

Το σύστημα των υποδοχέων της CRH

Μήτσης Αθανάσιος

Επιτηρητές: Σταματάκης Αντώνιος, Χρούσος Γεώργιος, Δαρβίρη Χριστίνα

Οκτώβρης 2017

Περιεχόμενα

Abstract	2
Περίληψη.....	2
Στρες	3
HPA άξονας.....	6
LC/NE σύστημα και συμπαθητικό σύστημα	9
Στρες και συγκεκριμένες επιρροές στον εγκέφαλο	10
CRH	13
Δομή CRH και γονιδίου CRH.....	17
Μεταγραφή της CRH	18
Επιγενετική και CRH	21
Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου.....	25
Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου και CRH	27
Υποδοχείς CRH.....	36
Ρύθμιση των επιπέδων mRNA και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των CRHRs	54
Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου και CRHRs	59
Αλληλεπίδραση της CRH και των υποδοχέων της με εγκεφαλικές περιοχές πέραν του «κλασσικού» συστήματος του στρες	65
Αλληλεπίδραση της CRH και των υποδοχέων της με το σύστημα LC/NE.....	74
Αλληλεπίδραση της CRH με τη γοναδοεκλυτίνη (GnRH) και ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών	81
CRH και παθολογικές καταστάσεις	85
Υπερέκφραση CRH/Απουσία CRH: Παθολογία και πειραματικές προσεγγίσεις.....	92
CRH και θεραπευτικές προοπτικές	99
Επίλογος	104
Βιβλιογραφία	107

Abstract

The term stress refers to a state of threatened or perceived as threatened homeostasis of an organism. The organism's response to stress is conducted through a specific mechanism, called the stress response system. Stress exposure has a big impact on an organism, especially when the exposure takes place during critical developmental periods. One of the key mediators of the stress response system is CRH (Corticotropin Releasing Hormone). CRH is a neuropeptide consisting of 41 amino acids that acts on the pituitary regulating the secretion of ACTH and glucocorticoids, and on extra-hypothalamic CNS centers regulating various response mechanisms to stress. The CRH-peptide family and their receptors showcase a wide distribution in the brain and peripheral tissues. There are two main types of CRH receptors, CRHR1 and CRHR2. The wide distribution of CRH-like peptides and their receptors – along with the receptors' various subtypes – indicate that their actions are very significant in species' adaptation to the environment and survival. CRH's actions on a number of physiological mechanisms and on a variety of brain regions are great research topics, while studies on CRHRs' function can help uncover new therapeutic applications for a great number of stress-related diseases.

Περίληψη

Το στρες αποτελεί μια κατάσταση στην οποία η ομοιόσταση του οργανισμού απειλείται ή θωρείται ότι βρίσκεται υπό απειλή. Η απόκριση στο στρες επιτυγχάνεται μέσω ενός συγκεκριμένου μηχανισμού, του συστήματος του στρες. Η επιρροή που έχει το στρες στον οργανισμό είναι μεγάλης σημασίας, ιδιαίτερα όταν η έκθεση σε αυτό γίνεται σε σημαντικές αναπτυξιακές περιόδους της ζωής. Ένας κύριος μεσολαβητής της απόκρισης του οργανισμού στο στρες είναι η CRH (Corticotropin releasing hormone). Η CRH είναι ένα νευροπεπτίδιο που αποτελείται από 41 αμινοξέα και δρα τόσο στον υποθάλαμο ελέγχοντας την έκκριση ACTH και γλυκοκορτικοειδών όσο και σε εξωυποθαλαμικά κέντρα του ΚΝΣ ρυθμίζοντας διάφορους μηχανισμούς απόκρισης στο στρες. Η οικογένεια των CRH πεπτιδίων και

οι υποδοχείς τους εμφανίζουν ευρεία κατανομή στον εγκέφαλο και στους περιφερικούς ιστούς. Οι τύποι υποδοχέων της CRH είναι δύο, CRHR1 και CRHR2. Η ευρεία αυτή κατανομή της CRH και των υποδοχέων της, αλλά και οι διαφορετικές υποκατηγορίες των CRH υποδοχέων δείχνουν ότι η δράση της είναι εξαιρετικά σημαντική για την προσαρμογή των ειδών στο περιβάλλον και την επιβίωση. Η δράση της CRH σε διάφορα συστήματα του οργανισμού αλλά και σε διαφορετικές εγκεφαλικές περιοχές αποτελούν πηγή μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος, ενώ η μελέτη της λειτουργίας των υποδοχέων της μπορεί να βοηθήσει στην εύρεση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για μεγάλο αριθμό ασθενειών που σχετίζονται με το στρες.

Στρες

Όλοι οι οργανισμοί χρειάζεται να αντιμετωπίσουν πλήθος προκλήσεων κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Για αυτό το λόγο, οι ίδιοι είναι προγραμματισμένοι να διατηρούν την ισορροπία του εσωτερικού τους περιβάλλοντος σταθερή, παρά τις προαναφερθείσες προκλήσεις. Αυτή η σταθερή εσωτερική κατάστασή τους ονομάζεται ομοιόσταση και είναι απαραίτητη για τη βέλτιστη λειτουργία του οργανισμού.(1) Τα απρόσμενα, εσωτερικά ή εξωτερικά, ερεθίσματα που απειλούν την ομοιόσταση ονομάζονται στρεσογόνοι παράγοντες ή στρέσορες. Το στρες προκύπτει όταν η ομοιόσταση απειλείται ή εκλαμβάνεται ως υπό απειλή. Για να ανταποκριθούν στις συνθήκες αυτές, οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει ένα πολύπλοκο σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει τόσο φυσιολογικές όσο και συμπεριφορικές αποκρίσεις. Το σύστημα αυτό ονομάζεται σύστημα του στρες και σε αυτό συμμετέχει και το ΚΝΣ (κεντρικό νευρικό σύστημα) και η περιφέρεια.(2)

Κεντρικά, υπάρχει ενεργοποίηση νευρωνικών μονοπατιών που μετέχουν, μεταξύ άλλων, σε λειτουργίες σχετικές με τη διέγερση, την επικέντρωση της προσοχής και την επιθετικότητα, καθώς και μονοπατιών που μετέχουν σε λειτουργίες όπως η θρέψη και η αναπαραγωγή. Περιφερικά οι αλλαγές στοχεύουν στην ανακατανομή της ενέργειας. Έτσι, το οξυγόνο και διάφορα θρεπτικά συστατικά καθοδηγούνται προς το ΚΝΣ καθώς και στα πιθανά σημεία του σώματος που συμμετέχουν στην αντίδραση στο στρες. Επιπρόσθετα, υπάρχει αύξηση στην

πίεση και τους καρδιακούς παλμούς, αύξησή του ρυθμού αναπνοής, αύξηση της γλυκονεογένεσης και της λιπόλυσης(3).

Η απόκριση που θα εμφανίσει το κάθε άτομο στο στρες επηρεάζεται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Εάν η απόκριση αυτή του οργανισμού στο στρες είναι μη επαρκής, υπερβολική, ή μεγαλύτερης του φυσιολογικού διάρκειας, υπάρχει πιθανότητα εμφάνισης αρνητικών μεταβολών σε φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού, όπως η ανάπτυξη, ο μεταβολισμός, το ανοσοποιητικό, η αναπαραγωγή και διάφορες γνωσιακές λειτουργίες. Αυτή η ανισορροπία που εμφανίζεται στον οργανισμό, καθώς και οι προαναφερθείσες μεταβολές χαρακτηρίζονται μέσω των όρων αλλοστατικό φορτίο και αλλοστατική υπερφόρτωση.(4)

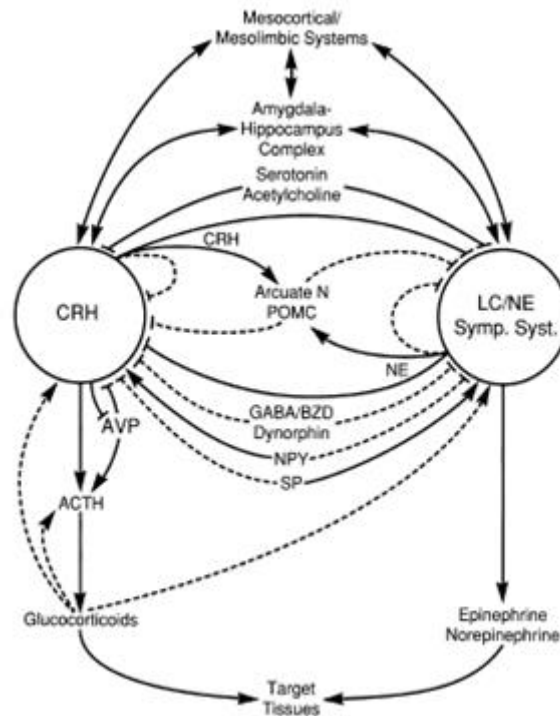
Αλλόσταση ονομάζεται η ενεργός διαδικασία προσαρμογής στο στρες που ρυθμίζεται μέσω του αυτόνομου, του μεταβολικού, του ανοσοποιητικού συστήματος και των ορμονών που παράγει το σύστημα του στρες, με τελικό στόχο τη διατήρηση της ομοιόστασης. Ως αλλοστατικό φορτίο ορίζεται η αθροιστική επιρροή που έχουν πολλαπλοί στρέσορες, αλλά και η ανισορροπία που εμφανίζεται στη διαδικασία της αλλόστασης (π.χ. υπερβολική έκκριση ορμονών). Η αλλοστατική υπερφόρτωση αναφέρεται στην αθροιστική παθοφυσιολογία που προκύπτει από την ανισορροπία αυτή και το υπερβολικό στρες.(4)

Το στρες μπορεί να διαχωριστεί σε καλό στρες, ανεκτό στρες και τοξικό στρες.(4) Το στρες σε πρώιμη ηλικία μπορεί να αλλάξει την αρχιτεκτονική του νευρικού συστήματος με στόχο την οξεία απόκριση στους στρέσορες, οδηγώντας στην τοξική μορφή του στρες. Η ύπαρξη στρεσογόνων ερεθισμάτων σε ευαίσθητες περιόδους της πρώιμης ανάπτυξης επιφέρει αλλαγές που διαρκούν κατά την υπόλοιπη ζωή. Σημαντικές εμπειρίες στα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια είναι η κακοποίηση, η μητρική στέρση, αλλά και η αυξημένη μητρική φροντίδα. Τέτοιες εμπειρίες επηρεάζουν την ικανότητα του ατόμου να ενσωματωθεί στο κοινωνικό περιβάλλον στη συνέχεια της ζωής του.

Όλο το ΚΝΣ παίζει άμεσο ή έμμεσο ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης, αλλά υπάρχουν συγκεκριμένες δομές μέγιστης σημασίας στο σύστημα του στρες. Τα κεντρικά τμήματα του συστήματος του στρες εντοπίζονται στον υποθάλαμο και το εγκεφαλικό στέλεχος. Αυτά περιλαμβάνουν τους μικροκυτταρικούς νευρώνες

των παρακοιλιακών πυρήνων του υποθαλάμου που εκκρίνουν CRH (κορτικοεκλυτίνη) και AVP (αγγειοπιεσίνη), τους νευρώνες των παραβράγχιων πυρήνων του προμήκους μυελού που εκλύουν CRH, τον LC (υπομέλανα τόπο) και νοραδρενεργικές (NE), κυρίως, κυτταρικές ομάδες του προμήκους μυελού και της γέφυρας. Το περιφερικό τμήμα του συστήματος του στρες αποτελείται από τον άξονα HPA (Υποθάλαμος-Υπόφυση-Μυελός των Επινεφριδίων-Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis), το απαγωγό τμήμα του SAM (Συμπαθητικό Αδρενομυελινικό Σύστημα-Sympathetic-Adrenal Medulla) και τμήματα του παρασυμπαθητικού συστήματος.(5)

Τόσο τα κεντρικά, όσο και τα περιφερικά τμήματα του συστήματος του στρες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους αλλά και με άλλα συστήματα του οργανισμού. Οι CRH νευρώνες π.χ. ενεργοποιούν το σύστημα LC/NE και το αντίστροφο. Το σύστημα του στρες ενεργοποιεί το μεσοφλοιϊκό και μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα ανταμοιβής και ταυτόχρονα δέχεται ανασταλτικές προβολές από το προαναφερθέν. Περαιτέρω το σύστημα του στρες ενεργοποιεί τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, ο οποίος με τη σειρά του διεγείρει το σύστημα μέσω θετικής ανατροφοδότησης. Ο PVN (παρακοιλιακός πυρήνας) του υποθαλάμου επικοινωνεί με τον τοξοειδή πυρήνα μέσω CRH και AVP νευρώνων που ενεργοποιούν τους POMC νευρώνες (εμπεριέχουν προ-οπιομελανοκορτίνη), οδηγώντας στην έκκριση β-ενδορφίνης και άλλων POMC-σχετιζόμενων πεπτιδίων. Τα μόρια αυτά, με τη σειρά τους, αναστέλλουν τη λειτουργία των συστημάτων CRH και LC/NE. Τέλος, η λεπτίνη, το νευροπεπτίδιο Y και η ουσία P, φαίνεται να μετέχουν επίσης στη ρύθμιση της απόκρισης στο στρες.(2)



Εικόνα 1:Σχεδιαγραμματική αναπαράσταση του συστήματος του στρες, των τμημάτων του και των αλληλεπιδράσεών τους.(3)

HPA άξονας

Η ύπαρξη ενός –αντιλαμβανόμενου- στρεσογόνου ερεθίσματος οδηγεί τον εγκέφαλο στην έναρξη μιας αλληλουχίας γεγονότων, με τελικό στόχο τη λήψη του μηνύματος ύπαρξης απειλής από τον PVN του υποθαλάμου. Από τον υποθάλαμο εκκρίνονται η CRH και η AVP που απελευθερώνονται στο πυλαίο-υποφυσιακό-κυκλοφορικό σύστημα, με τελικό προορισμό την πρόσθια υπόφυση. Εκεί οι παραπάνω ορμόνες θα διεγείρουν τα εκκριτικά POMC κύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους θα εκκρίνουν την ACTH (κορτικοτοπίνη). Τέλος, η ACTH απελευθερώνεται στο αίμα και δρα στον φλοιό των επινεφριδίων, διεγείροντας τη σύνθεση γλυκοκορτικοειδών (κορτιζόλη στους ανθρώπους κα κορτικοστερόνη στους επίμους).

Η CRH που εκκρίνεται στο πυλαίο-υποφυσιακό-κυκλοφορικό σύστημα είναι ο κύριος ρυθμιστής της έκκρισης ACTH από την υπόφυση. Η CRH είναι ικανή προϋπόθεση για την έκκριση ACTH, ενώ η AVP, παρότι εμφανίζει συνεργιστική δράση με τη CRH, δεν έχει μεγάλη επιρροή στην έκκριση ACTH.(6) Εμφανίζεται μάλιστα και αλληλεπίδραση μεταξύ CRH και AVP στον υποθάλαμο, με το κάθε ένα μόριο να διεγείρει την έκκριση του άλλου.

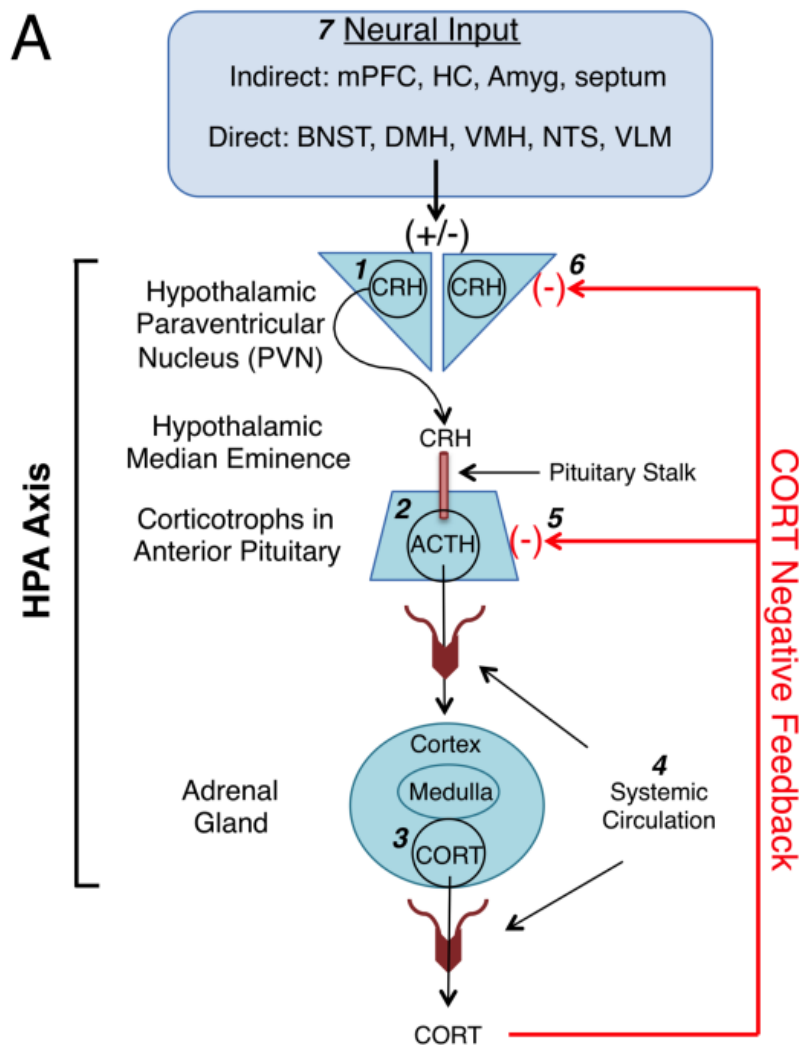
Σε καταστάσεις απουσίας στρες, τόσο η CRH όσο και η AVP εκκρίνονται στο πυλαίο-υποφυσιακό-κυκλοφορικό σύστημα κατά ώσεις, με αρμονικό κίρκαδικό τρόπο. Το εύρος των ώσεων της CRH και της AVP αυξάνεται τις πολύ πρωινές ώρες, καταλήγοντας στην αύξηση τόσο του εύρους αλλά και της συχνότητας έκκρισης ACTH και κορτιζόλης στην κυκλοφορία του αίματος. Το οξύ στρες αυξάνει το εύρος αλλά και το συγχρονισμό των ώσεων με τον οποίο ο PVN εκκρίνει CRH και AVP στο πυλαίο-υποφυσιακό-κυκλοφορικό σύστημα. Ανάλογα με τον τύπο του στρες, άλλοι παράγοντες όπως η αγγειοτενσίνη II, κυτοκίνες και λιπιδιακοί παράγοντες της φλεγμονής εκκρίνονται και επηρεάζουν τον HPA, συνήθως με την ενίσχυση της δραστηριότητάς του.

Η ACTH που εκκρίνει η υπόφυση στην κυκλοφορία έχει ως κύριο στόχο το φλοιό των επινεφριδίων. Η ίδια είναι ο κύριος ρυθμιστής της έκκρισης γλυκοκορτικοειδών και ανδρογόνων των επινεφριδίων από τη στηλιδωτή και τη δικτυωτή ζώνη, αντίστοιχα. Επίσης, συμμετέχει στην έκκριση αλδοστερόνης από τη σπειροειδή ζώνη. Εκτός αυτής, όμως, παρουσιάζεται ότι και άλλες ορμόνες ή κυτοκίνες που προέρχονται από το μυελό των επινεφριδίων ή από τη συστηματική κυκλοφορία συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκκρισης της κορτιζόλης και το μέγεθος του φλοιού των επινεφριδίων. Το ίδιο εικάζεται και για σήματα που μεταφέρει το αυτόνομο νευρικό στο φλοιό των επινεφριδίων.(6)

Τα γλυκοκορτικοειδή, ως τελικά παράγωγα του HPA άξονα έχουν πληθώρα ρόλων. Καταστέλλουν τα CRH και LC/NE συστήματα, ενώ ταυτόχρονα διεγείρουν το μεσοφλοιϊκό-μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα και τον CRH πεπτιδεργικό κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής.(7) Εκτός αυτού, καταστέλλουν άμεσα την έκκριση των υποφυσιακών γοναδοτροπινών, καθώς και των GH και TSH και επιπλέον αυξάνουν την αντοχή των ιστών-στόχων τους προς τις ορμόνες αυτές. Επιπροσθέτως καταστέλλουν και τη δράση της 5'αποϊωδινάσης, η οποία μετατρέπει τη σχετικά αδρανή τετραϊοδοθυρωνίνη (T₄) σε τριϊωδοθυρωνίνη (T₃), γεγονός που συνεισφέρει στην καταστολή των αναπαραγωγικών και αυξητικών λειτουργιών. Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν άμεση αλλά και ινσουλινοεξαρτώμενη επίδραση στο λιπώδη ιστό, προωθώντας τη σπλαχνική εναπόθεση λίπους, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τη δυσλιπιδαιμία, την υπέρταση. Τέλος, ασκούν άμεση επίδραση στα οστά, οδηγώντας σε χαμηλή οστική σύνθεση, με επακόλουθο την

οστεοπόρωση.(7)

Υπάρχουν δύο είδη υποδοχέων γλυκοκορτικοειδών, οι MR (υποδοχείς αλατοκορτικοειδών), γνωστοί και ως τύπου I, και οι GR (υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών), γνωστοί και ως τύπου II. Οι MR έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τα γλυκοκορτικοειδή, από ότι οι GR. Έτσι, οι MR εμφανίζουν πιο εύκολα κορεσμό. Αυτό οδηγεί στο φαινόμενο να προσδένονται εύκολα τα γλυκοκορτικοειδή σε αυτούς, ακόμη και σε κατάσταση ηρεμίας. Αντιθέτως, οι υποδοχείς GR χρειάζονται υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών για την ενεργοποίησή τους, λόγω της χαμηλής συγγένειας που έχουν με αυτά. Οι MR έχουν περιορισμένη κατανομή στον εγκέφαλο και εμφανίζονται ειδικά σε μεταιχμιακές δομές, ενώ οι GR εμφανίζονται σε όλον τον εγκέφαλο.



Εικόνα 2:Σχηματική απεικόνιση του HPA άξονα και των συστημάτων αρνητικής ανατροφοδότησής του.(8)

LC/NE σύστημα και συμπαθητικό σύστημα

Εκτός του HPA άξονα, στην απόκριση στο στρες λαμβάνουν μέρος το LC/NE σύστημα, το SAM σύστημα, καθώς και τμήματα του παρασυμπαθητικού. Το σύστημα LC/NE, γνωστό και ως κεντρικό νοραδρενεργικό σύστημα, περιλαμβάνει τον υπομέλανα τόπο και τις νοραδρενεργικές περιοχές του εγκεφαλικού στελέχους. Ο υπομέλανας τόπος είναι μια συστάδα NE-νευρώνων που εντοπίζεται στην άνω οπισθοπλάγια καλύπτρα της γέφυρας. Αυτοί οι νευρώνες έχουν άξονες που διακλαδώνονται εκτενώς και προβάλλουν κατά μήκος όλου του νευράξονα. Αποτελούν τη μόνη πηγή NE στο νεοφλοιό, στον υπόκαμπο, την παρεγκεφαλίδα και το μεγαλύτερο μέρος του θαλάμου.(9) Το SAM σύστημα, γνωστό και ως περιφερικό νοραδρενεργικό σύστημα περιλαμβάνει τους νοραδρενεργικούς νευρώνες του συμπαθητικού συστήματος και το μυελό των επινεφριδίων.

Το συμπαθητικό σύστημα νευρώνει τα περιφερικά όργανα μέσω των προγαγγλιακών ινών, των οποίων τα κυτταρικά σώματα βρίσκονται στη πλαγιομέση δέσμη του νωτιαίου μυελού. Οι νευρώνες αυτοί σχηματίζουν συνάψεις με μεταγαγγλιακούς νευρώνες του συμπαθητικού στη συμπαθητική αλυσίδα γαγγλίων.(5) Οι μεταγαγγλιακοί νευρώνες καταλήγουν στη συνέχεια σε αγγειακά και σκελετικά λεία μυϊκά κύτταρα, καθώς και λεία μυϊκά κύτταρα της καρδιάς, των νεφρών, του εντέρου, του λιπώδη ιστού, και άλλων οργάνων. Οι προγαγγλιακοί νευρώνες είναι κυρίως χολινεργικοί, ενώ οι μεταγαγγλιακοί εκκρίνουν, κυρίως, νοραδρεναλίνη. Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα μετέχει, επίσης, στη συστηματική κυκλοφορία αδρεναλίνης και, σε μικρότερο ποσοστό, νοραδρεναλίνης που εκκρίνονται από το μυελό των επινεφριδίων. Το παρασυμπαθητικό, πάντως, μπορεί και να βοηθήσει τη λειτουργία του συμπαθητικού με μείωση της δραστηριότητάς του, αλλά και να το ανταγωνιστεί με αύξηση της δραστηριότητάς του.

Η ενεργοποίηση των προαναφερθέντων συστημάτων, πέρα του HPA άξονα, επιφέρει μια μεγάλη γκάμα μεταβολών. Μπορούν και επηρεάζουν το καρδιαγγειακό, το αναπνευστικό, το γαστρεντερικό, το ρινικό, το ενδοκρινικό και άλλα συστήματα. Μερικές από τις μεταβολές που εμφανίζονται από την

ενεργοποίηση των παραπάνω συστημάτων είναι η ανεβασμένη πίεση του καρδιαγγειακού, ο αυξημένος καρδιακός και αναπνευστικός, ρυθμός, αλλαγές στη διαδικασία της πέψης κ.ά.

Στρες και συγκεκριμένες επιρροές στον εγκέφαλο

Ο εγκέφαλος αποτελεί κύριο όργανο στην απόκριση στο στρες, στη μέθοδο αντιμετώπισής του και στη διαδικασία ανάρρωσης που ακολουθεί. Μέσα στον εγκέφαλο, ένα εκτενές νευρικό δίκτυο καθορίζει τι είναι απειλητικό και κατ'επέκτασιν στρεσογόνο για το άτομο. Κύριες περιοχές του εγκεφάλου που συμμετέχουν σε αυτή τη λειτουργία είναι ο ιππόκαμπος, η αμυγδαλή και περιοχές του προμετωπιαίου φλοιού. Οι περιοχές αυτές, μαζί, ρυθμίζουν τις συμπεριφορικές και φυσιολογικές αποκρίσεις στο στρες. Αυτές οι διαδικασίες πραγματοποιούνται λόγω της επικοινωνίας του εγκεφάλου με το αυτόνομο, καρδιαγγειακό και ανοσοποιητικό σύστημα μέσω νευρικών και ενδοκρινικών μονοπατιών που επηρεάζουν τη συμπεριφορά, τις γνωσιακές λειτουργίες και την εμπειρία του ατόμου. Ενίοτε οι μηχανισμοί αυτοί είναι προστατευτικοί, μια και προωθούν τη βραχυπρόθεσμη προσαρμογή. Άλλες φορές, όμως, οδηγούν σε μια μακροπρόθεσμη ανισορροπία που προωθεί τη φθορά του σώματος αλλά και του εγκεφάλου.(10) Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η απόκριση του στρες από άτομο σε άτομο διαφέρει. Αυτό οφείλεται στις διαφορετικές εμπειρίες που φέρει ο καθένας από τη ζωή του, κυρίως σε ευαίσθητες περιόδους ανάπτυξης, αλλά και από το γενετικό του υπόβαθρο.(11) Πάντως, ένας από τους κύριους τρόπους με τον οποίο οι ορμόνες του στρες λειτουργούν στον εγκέφαλο είναι μέσω της αλλαγής της αρχιτεκτονικής του. Παρακάτω θα παρουσιαστούν μερικά παραδείγματα για την επιρροή που έχει το στρες στην αρχιτεκτονική του εγκεφάλου.

Ιππόκαμπος: Ο ιππόκαμπος είναι μια από τις πιο ευαίσθητες και εύπλαστες περιοχές του εγκεφάλου και κατέχει κρίσιμο ρόλο στη γνωστική λειτουργία. Στο εσωτερικό του ιπποκάμπου η εισροή πληροφοριών από τον ενδορινικό φλοιό στη οδοντωτή έλικα(DG) διακλαδίζεται με τις συνδέσεις που σχηματίζει η οδοντωτή έλικα (DG) με τους CA3 πυραμιδικούς νευρώνες. Το σύστημα DG-CA3 εικάζεται ότι

συμμετέχει στη μνήμη ακολουθίας γεγονότων. Η λειτουργία του και η δομή του, καθιστούν το σύστημα DG-CA3 αρκετά εύθραυστο. Για παράδειγμα, τα CA3 πυραμιδικά κύτταρα υπόκεινται σε μια αναστρέψιμη αναδιαμόρφωση των δενδριτών τους σε καταστάσεις όπως η χειμερία νάρκη, σε κάποια θηλαστικά(12), ή το χρόνιο στρες. Με αυτόν τον τρόπο, ο ιππόκαμπο αλλάζει ως απόκριση στο οξύ και χρόνιο στρες.

Μερικές κατηγορίες οξύ στρες και πολλές κατηγορίες χρόνιου στρες έχουν την ικανότητα να καταστέλλουν τη νευρογένεση ή την επιβίωση κυττάρων στην οδοντωτή έλικα. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω διεγερτικών αμινοξέων που δρουν στους NMDA υποδοχείς και μέσω ενδογενών οπιοειδών. Το στρες σε πρώιμες ηλικίες οδηγεί, με κάποια χρονική καθυστέρηση, σε μείωση της γνωστικής λειτουργίας, μείωση του αριθμού CA3 νευρώνων και χαμηλή διακλάδωση των πυραμιδικών νευρώνων του ιπποκάμπου. Επιπροσθέτως, το χρόνιο στρες περιορισμού προκαλεί 'μάζεμα' και 'απλοποίηση' των δενδριτών στη CA3 περιοχή του ιπποκάμπου. Σε πειράματα *in vitro* η CRH καταστέλλει τη διακλάδωση δενδριτών σε καλλιέργειες κυττάρων του ιπποκάμπου.(11) Όσον αφορά τις ορμόνες του στρες, η CRH εκφράζεται στον αναπτυσσόμενο ιππόκαμπο από μια υποκατηγορία GABAνευρώνων, τα Cajal-Retzius κύτταρα.

Προμετωπιαίος Φλοιός: Ο προμετωπιαίος φλοιός (PFC) συμμετέχει στη μνήμη εργασίας, στις αυτορρυθμιζόμενες και στοχοκαθοριζόμενες συμπεριφορές. Παρουσιάζει μεγάλη πλαστικότητα τόσο όσον αφορά τη δομή του όσο και τη λειτουργία του κατά τη διάρκεια της ζωής.(13) Οι εμπειρίες, κυρίως σε στάδια της ζωής όπως η βρεφική ηλικία και η εφηβεία, μπορούν να επηρεάσουν τις νευρικές συνδέσεις, το μοριακό προφίλ αλλά και τη νευροχημεία του PFC, οδηγώντας σε αλλαγές στη συμπεριφορά.

Σε ζωικά μοντέλα, οι στρεσογόνες εμπειρίες εμφανίζουν διφασική και χρονοεξαρτώμενη δράση στον PFC. Σε επίμυες ηλικίας 3-4 εβδομάδων, διάφοροι οξείς στρεσογόνοι παράγοντες προωθούν την εξαρτώμενη από τον PFC συμπεριφορά και τη μακροχρόνια ενίσχυση των συνάψεων (LTP), όπως παρουσιάζει ο έλεγχος 4 ώρες μετά την έκθεση στο στρέσορα. Στην ίδια ηλικία, όμως, το χρόνιο μη αναμενόμενο στρες ή το στρες περιορισμού για 7 μέρες βλάπτει τη μνήμη

αναγνώρισης χρονικής σειράς, η οποία γνωστική διαδικασία ελέγχεται από τον μέσο προμετωπιαίο φλοιό (mPFC). Επιπροσθέτως, η προαναφερθείσα μορφή στρες προκαλεί μείωση της συναπτικής μεταβίβασης μέσω AMPAR και NMDAR υποδοχέων και μειώνει την έκφραση του υποδοχέα γλουταμικού στον mPFC. Η αρνητική δράση του χρόνιου στρες διατηρείται και σε μεγαλύτερες ηλικίες, μια και σε ενήλικες επίμυες, 21 μέρες χρόνιου στρες περιορισμού βλάπτει τη μνήμη εργασίας και προκαλεί απώλεια δενδριτικών ακάνθων και 'κλάδεμα' δενδριτών στους νευρώνες του mPFC. Εν τω μεταξύ, στους ενήλικες επίμυες, το οξύ στρες μέσης έντασης βλάπτει τη μνήμη εργασίας κατά τη διάρκεια αλλά και μετά της εφαρμογής, κάτι που επιτυγχάνεται μέσω διέγερσης ντοπαμινεργικών και νοραδρενεργικών υποδοχέων.(13) Οι διαφορές που έχουν περιγραφεί οφείλονται στη χρονική στιγμή και τη διάρκεια έκθεσης στον στρέσορα καθώς και στη φύση του στρέσορα που χρησιμοποιείται. Έτσι προκύπτει η διφασική μορφή της απόκρισης στο στρες από τον PFC.

Αμυγδαλή: Μεγάλος αριθμός ερευνών παρουσιάζει την αμυγδαλή ως σημαντικό ρυθμιστή στη μνήμη.(14) Συγκεκριμένα, το στρες επηρεάζει την παγίωση της μνήμης μέσω της η έξω-βασικής περιοχής της αμυγδαλής (BLA): Η έκκριση νοραδρεναλίνης στην αμυγδαλή ως απόκριση στο στρες επιφέρει αλλαγές στην παγίωση της μνήμης. Έγχυση νοραδρεναλίνης στη BLA αρουραίων και ποντικών οδηγεί στην παγίωση μνήμης μετά την εκπαίδευσή τους σε συναισθηματικά διεγερτικές διαδικασίες μάθησης. Η χρήση ανταγωνιστών των β-αδρενεργικών υποδοχέων διαταράσσει την παγίωση αυτή.

Οι ορμόνες που παράγουν τα επινεφρίδια μετά την έκθεση σε κάποιο στρεσογόνο παράγοντα δρουν διαφορετικά. Η αδρεναλίνη ως πολική ένωση δε μπορεί να περάσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Συνεπώς, όσον αφορά την αδρεναλίνη, το μονοπάτι που χρησιμοποιείται για τη δράση της στην αμυγδαλή, ξεκινά από την περιφέρεια και καταλήγει στο ΚΝΣ. Η αδρεναλίνη ενεργοποιεί περιφερικούς β-αδρενεργικούς υποδοχείς που εντοπίζονται σε προσαγωγούς νευρώνες του πνευμονογαστρικού, οι οποίοι καταλήγουν στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας. Στη συνέχεια, ο πυρήνας της μονήρους δεσμίδας προβάλλει

άμεσα στην αμυγδαλή μέσω νοραδρενεργικών κυττάρων αλλά και έμμεσα, καθώς προβάλλει και σε νοραδρενεργικά κύτταρα του υπομέλανα τόπου. Ο υπομέλανας τόπος αποτελεί κύρια πηγή νοραδρενεργικών ινών που εισέρχονται στη BLA.

Αντίθετα με την αδρεναλίνη, τα γλυκοκορτικοειδή διέρχονται ελεύθερα από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και συνδέονται άμεσα με τους υποδοχείς τους στη BLA και άλλες περιοχές του εγκεφάλου. Η ενεργοποίηση GRs ενισχύει την παγίωση της μνήμης μετά από διαδικασίες εκπαίδευσης,(14) και επιπλέον ενισχύουν την νοραδρενεργική δραστηριότητα στη BLA. Στην ενίσχυση της νοραδρενεργικής δραστηριότητας στη BLA συμμετέχει και η CRH.

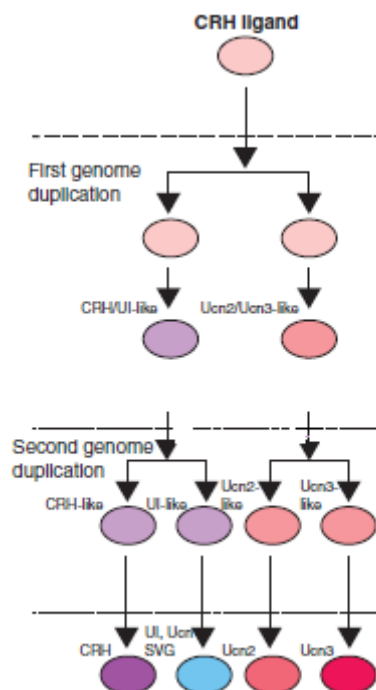
Σε δομικό επίπεδο έχει δειχθεί επίδραση τόσο του οξέος όσο του χρόνιου στρες στην Αμυγδαλή. Για παράδειγμα, οξύ στρες περιορισμού για δύο ώρες σε επίμυες οδήγησε σε αύξηση της πυκνότητας δενδριτικών ακάνθων στους κύριους νευρώνες της BLA και αύξηση της αγχώδους συμπεριφοράς. Τα φαινόμενα αυτά εμφανίστηκαν 10 μέρες μετά την έκθεση στο οξύ στρες. Αντίθετα, το ίδιο μοντέλο στρες περιορισμού, αν επαναληφθεί για 10 συνεχόμενες μέρες οδηγεί σε εμφάνιση αγχώδους συμπεριφοράς σε 24 ώρες μετά την παύση της έκθεσης στο στρέσορα και πιο εκτεταμένη αύξηση της πυκνότητας των δενδριτικών ακάνθων. Τέλος, το χρόνιο στρες οδηγεί και σε αύξηση δενδριτών σε πυραμιδικούς και αστεροειδείς νευρώνες της BLA, ενώ σε άλλες περιοχές της αμυγδαλής φέρει διαφορετικές επιδράσεις (αυξάνει τις διακλαδώσεις των νευρώνων του βασικού πυρήνα της τελικής ταινίας και μειώνει την πυκνότητα των ακάνθων στη μέση αμυγδαλή).(14)

CRH

Η CRH είναι ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 41 αμινοξέα. Ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά στους μικροκυτταρικούς νευρώνες του παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου. Διαθέτει κύριο ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας του άξονα Υποθάλαμου-Υπόφυσης-Επινεφριδίων (hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis-HPA axis).

Η πρώτη απομόνωση της καθαρής CRH έγινε από τον υποθάλαμο προβάτου και η περιγραφή της έγινε στο άρθρο του Wylie Vale και συνεργατών του το 1981. Πάραυτα, πριν το άρθρο του Wylie Vale, οι Montecucchi και συνεργάτες,

περιέγραψαν τη δομή της SVG (sauvagine), ενός πεπτιδίου 40 αμινοξέων - που απομονώθηκε από ένα είδος δεινόσαυρου βατράχου, το *Phyllomedusa sauvagei*. Ένα παραπλήσιο πεπτίδιο εντοπίστηκε στη δομή urophysis των ψαριών του είδους *Catostomus commersoni* και ονομάστηκε UI (Urotensin I). Η UI και η SVG έχουν τη δυνατότητα να διεγείρουν την έκκριση ACTH από τον υποφυσιακό αδένα των επίμυων, παρότι φαρμακολογικά διαφέρουν από τη CRH. Το ορθόλογο των UI και SVG στα θηλαστικά περιγράφηκε στο άρθρο των Vaughan και συνεργατών το 1995 και ονομάστηκε Ucn (urocortin), επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη δύο παράλογων πεπτιδίων μορφής CRH στα σπονδυλωτά.⁽¹⁵⁾ Επακόλουθες έρευνες παρουσίασαν πώς και τα έντομα εμφάνιζαν ορθόλογα των πεπτιδίων της μορφής CRH. Τα πεπτίδια αυτά ονομάστηκαν διουρητικές ορμόνες (DH). Στα σπονδυλωτά, πάντως, με βάση την υπόθεση 2R, η οποία δηλώνει ότι υπήρξαν δύο στάδια διπλασιασμού του γονιδιώματος κατά την εξέλιξη των σπονδυλωτών, έπρεπε να υπάρχουν 4 παράλογα της CRH. Στις αρχές του 21^{ου} αιώνα, ανεξάρτητες έρευνες επιβεβαίωσαν τη θεωρία αυτή με την περιγραφή των Ucn2 και Ucn3. Μελέτες υποστηρίζουν ότι τα πρώτα σπονδυλωτά κληρονόμησαν ένα πεπτίδιο της μορφής CRH, το οποίο μετά τον πρώτο διπλασιασμό του γονιδιώματος οδήγησε στη δημιουργία δύο πεπτιδίων, του πρόγονου CRH/UI/SVG/Ucn και του πρόγονου Ucn2/Ucn3. Ο δεύτερος διπλασιασμός οδήγησε στη δημιουργία των 4 ξεχωριστών πεπτιδίων που εμφανίζονται στα σπονδυλωτά.



Εικόνα 3:Εξέλιξη των πεπτιδίων τύπουCRH(15)

Εικάζεται ότι η αρχική λειτουργία της CRH ομάδας πεπτιδίων ήταν η ρύθμιση της διούρησης και της θρέψης, κάτι που ενισχύεται από τη λειτουργία των DH στα έντομα. Η θεωρία αυτή βρίσκει βάση και στο γεγονός ότι στα πρώιμα μετάρζωα, που εμφάνιζαν πιο απλή φυσιολογία και γονιδίωμα, το σύστημα που διατηρούσε την ομοιόσταση βασιζόταν στην εξισορροπημένη κατανάλωση ενέργειας, που κατ' επέκτασιν ρυθμιζόταν, κυρίως, από τη θρέψη και την ούρηση. Τα συγκεκριμένα πεπτίδια διατηρήθηκαν καθώς αποτελούσαν μια απάντηση σε εξωτερικούς παράγοντες που απειλούσαν την ομοιόσταση και κατά την εξέλιξη εντάχθηκαν σε αυτό που είναι γνωστό ως σύστημα απόκρισης του στρες, που προστατεύει τον οργανισμό τόσο από εξωτερικούς όσο και από εσωτερικούς παράγοντες.(15)

Η κατανομή της CRH στον ανθρώπινο οργανισμό μοιάζει πολύ με αυτήν σε επίμυες.(16) Η μεγαλύτερη συγκέντρωση της CRH εμφανίζεται στον υποθάλαμο. Η ποσότητά της σε αυτόν είναι μεγάλη, με τον υπεροπτικό πυρήνα, τον παρακοιλιακό πυρήνα και την περιοχή του τοξοειδούς πυρήνα να έχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις. Η CRH εντοπίζεται σε μικροκυτταρικούς νευρώνες του παρακοιλιακού πυρήνα και είναι αποθηκευμένη σε κυστίδια με διάμετρο 100-150nm. Οι θετικές σε CRH νευρικές ίνες του PVN περνάνε υπό, άνω αλλά και διαμέσου της ψαλίδας και στρίβουν κατηφορικά και σε ενδιάμεση θέση προς τον

υπεροπτικό πυρήνα και τερματίζουν στη μέση προεξοχή. Η CRH εντοπίζεται, επίσης, σε άξονες του μίσχου της υπόφυσης και σε άξονες της νευροϋπόφυσης. Η CRH στον υποθάλαμο εμφανίζει φυλετικό διμορφισμό, καθώς οι συγκεντρώσεις της είναι υψηλότερες στις γυναίκες από ό,τι στους άνδρες και επιπλέον αυξάνονται με την ηλικία.

Οι συγκεντρώσεις της CRH είναι πολύ μικρότερες στον εγκεφαλικό φλοιό από ό,τι στον υποθάλαμο, με αυτές του θαλάμου, των βασικών γαγγλίων, του υποκάμπου, της γέφυρας, του προμήκη μυελού, της παρεγκεφαλίτιδας και της σπονδυλικής στήλης να ακολουθούν σε φθίνουσα σειρά συγκεντρώσεων. Ανοσοϊστοχημικές έρευνες έχουν εντοπίσει υψηλή περιεκτικότητα CRH σε μη πυραμιδικούς νευρώνες στην πολυμορφική στιβάδα της οδοντωτής έλικας, σε ένα πλέγμα νευρώνων που εντοπίζεται στην υπερκοκκιώδη στιβάδα της οδοντωτής έλικας και στην περιοχή πυραμιδικών κυττάρων του υποκάμπου.(16) Η CRH εντοπίζεται και σε ίνες που διέρχονται από τον υπομέλανα τόπο. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τόσο ο υποκάμπος όσο και ο υπομέλανας τόπος μετέχουν στη ρύθμιση του HPA άξονα.

Μετά τον υποθάλαμο, ο δεύτερος μεγαλύτερος παραγωγός CRH στα πρωτεύοντα είναι ο πλακούντας. Το γεγονός αυτό έχει δημιουργήσει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον για το ρόλο και τη σημασία της CRH στην εμβρυϊκή ανάπτυξη αλλά και στην όλη διαδικασία της εγκυμοσύνης.(17) Η CRH που παράγεται από τον πλακούντα είναι ίδια με αυτή που παράγεται στον υποθάλαμο, με τη διαφορά ότι στον πλακούντα υπάρχουν δυο επιπλέον μορφές του πεπτιδίου με μεγαλύτερο μοριακό βάρος. Η CRH που παράγεται από τον πλακούντα εκκρίνεται κυρίως στο μητρικό πλάσμα με μικρή ποσότητα να περνά και στο έμβρυο.

Όσον αφορά τη μελέτη των συγκεντρώσεων της CRH στο πλάσμα του αίματος, αυτή είναι αρκετά περίπλοκη. Σε αντίθεση με το πλάσμα των μη πρωτευόντων, το ανθρώπινο εμπεριέχει και μια πρωτεΐνη υψηλής ειδικότητας που δεσμεύει τη CRH.(16) Η CRH-bindingprotein, όπως θα αναφέρεται από εδώ και πέρα, έχει μοριακό βάρος 25-40 kD και η συγγένεια με την ανθρώπινη CRH είναι ίση αυτής του υποδοχέα CRHR1 της πρόσθιας υπόφυσης.

Η CRH-BP είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, της οποίας οι καρβοξυτελικές πλάγιες αλυσίδες έχουν το ρόλο της σύνδεσης με τη CRH. Στον άνθρωπο, εκτός από το πλάσμα του αίματος, η CRH-BP εμφανίζεται και στο αμνιοτικό υγρό, αλλά σε μικρότερες συγκεντρώσεις. Η σύνδεσή της με τη CRH, καθιστά την τελευταία αδρανή. Το γεγονός ότι στα μη πρωτεύοντα ο πλακούντας δεν παράγει CRH και η CRH-BP απουσιάζει από το πλάσμα του αίματος υποστηρίζει τη θεωρία ότι από τους κύριες δράσεις της CRH-BP είναι η προστασία της μητέρας από τη πλακουντιακή CRH.(16)

Δομή CRH και γονιδίου CRH

Δομικά, το γονίδιο της CRH αποτελείται από δύο εξώνια μήκους 170 και 1117bp και ένα εσώνιο μήκους 800bp. Το ίδιο το γονίδιο εμφανίζεται αρκετά συντηρημένο στα περισσότερα σπονδυλωτά. Η περιοχή κωδικοποίησης της πρωτεΐνης βρίσκεται ολόκληρη στο δεύτερο εξώνιο. Η ανθρώπινη CRH προκύπτει από ένα πρόδρομο μόριο, το οποίο αποτελείται από 196 αμινοξέα. Περιέχει μια υδροφοβική αλληλουχία σήματος στο αμινοτελικό άκρο, η οποία είναι απαραίτητη για την έκκρισή του. Το μεσαίο τμήμα του μορίου περιέχει 124 αμινοξέα άγνωστης λειτουργίας. Εντέλει, το καρβοξυτελικό άκρο του μορίου είναι αυτό που περιέχει την αλληλουχία 41 αμινοξέων που θα αποτελέσει το ώριμο μόριο. Το τμήμα αυτό διαχωρίζεται από την αμινοτελική περιοχή μέσω ενός αμινικό κατάλοιπου, ευαίσθητου σε πρωτεάσες. Η αμίδωση (amidation) του καρβοξυτελικού άκρου της CRH είναι απαραίτητη για να γίνει η CRH βιολογικά ενεργή. Στο επίπεδο των αμινοξέων, η ανθρώπινη CRH είναι ίδια με αυτή των επίμυων και των ποντικών, ενώ η CRH του προβάτου εμφανίζει διαφορά σε 7 αμινοτελικά κατάλοιπα.(18)

Θεωρείται ότι η περιοχή του υποκινητή του CRH γονιδίου περιέχει *cis*-ρυθμιστικά στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων ενός στοιχείου απόκρισης στο κυκλικό AMP (*cAMP*-response element/ CRE), αλληλουχιών AP-1 και κάποια στοιχεία απόκρισης στα γλυκοκορτικοειδή. Επίσης, υπάρχουν στοιχεία απόκρισης στα οιστρογόνα (ERE) που εικάζεται ότι λαμβάνουν μέρος στην μεταγραφική διέγερση από οιστρογόνα, ενώ πιο σύγχρονες έρευνες δείχνουν ότι οι υποδοχείς οιστρογόνων α και β μπορούν να ελέγχουν τη μεταγραφή της CRH μέσω

αλληλεπίδρασης με το μεταγραφικό σύμπλοκο στο CRE.(19) Το εσώνιο περιλαμβάνει και την αλληλουχία restrictive element-I/ neuronrestrictive element (RE-1/NRSE). Η αλληλουχία αυτή συνδέεται με το μεταγραφικό καταστολέα restrictive element silencing transcription factor/ neuronrestrictive silencing factor (REST/NSFR), με αποτέλεσμα τον περιορισμό της έκφρασης της CRH στα νευρωνικά κύτταρα. Ενεργοποίηση του CRH νευρώνα κατά τη διάρκεια του στρες συνδέεται και με την έκφραση γονιδίων όπως τα c-fos, Fra-2, zip-268/Egr-1 και NGF1B, καθώς και φωσφορυλίωση και μετατόπιση του CREB (CRE binding protein) και της MAP κινάσης ERK στον πυρήνα. Αυτό υποδηλώνει ότι οι προαναφερθέντες μεταγραφικοί παράγοντες συμμετέχουν στη ρύθμιση της μεταγραφής της CRH.

Μεταγραφή της CRH

Η ενεργοποίηση της μεταγραφής της CRH στηρίζεται σε cAMP/protein kinase A(PKA) βασιζόμενα μονοπάτια. Αυτά καταλήγουν στην επιστράτευση του φωσφορυλιωμένου CREB (pCREB) από το CRE του υποκινητή της CRH που είναι απαραίτητο για τη ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου. Η φωσφορυλίωση του CREB μπορεί να επιτευχθεί μέσω πολλών μονοπατιών, αλλά απουσία cAMP, η πρωτεΐνη αυτή δεν έχει τη δυνατότητα να διεγείρει τη μεταγραφή της CRH. Αυτό υποδεικνύει ότι πέραν της φωσφορυλίωσης του CREB, για την ενεργοποίηση της μεταγραφής της CRH είναι απαραίτητη και η ύπαρξη ενός συνενεργοποιητή που απαιτεί την ύπαρξη cAMP για τη λειτουργία του.(19) Αυτός ο συνενεργοποιητής έχει ταυτοποιηθεί σε πρόσφατες έρευνες και ονομάζεται Transducer of Regulated CREB Activity(TORC), γνωστός και ως CREB-regulated transcription co-activator (CRTC).

Η οικογένεια των TORC πεπτιδίων αποτελείται από τους TORC 1, 2, 3 που αλληλεπιδρούν με τον CREB. Ο TORC ενισχύει τη μεταγραφική δραστηριότητα του CREB με τη σύνδεσή του στην περιοχή διμερισμού του CREB και επιστρατεύοντας το μεταγραφικό σύμπλοκο. Υπό βασικές συνθήκες, ο TORC εντοπίζεται ως φωσφορυλιωμένη μορφή στο κυτταρόπλασμα, όπου βρίσκεται συνδεδεμένος με την πρωτεΐνη συνοδό 14-3-3. Η φωσφορυλίωση του TORC γίνεται μέσω μελών της οικογένειας των AMPK (AMP-activated protein kinase) πρωτεϊνικών κινάσων Ser/Thr, συμπεριλαμβανομένης της SIK(salt-inducible(kinase). Η πρωτεϊνική κινάση

Α απενεργοποιεί αυτές τις κινάσες, εμποδίζοντας τη φωσφορυλίωση του TORC και επιτρέποντας την απελευθέρωσή του από τη 14-3-3. Ο TORC στη συνέχεια μεταφέρεται στον πυρήνα όπου αλληλοεπιδρά με την CREB. Πέραν της πρωτεϊνικής κινάσης A, η φωσφατάση calcineurin, αποφωσφορυλιώνει και συνεπώς ενεργοποιεί τον TORC. Οι TORC1, 2, 3 έχουν ιστοειδική κατανομή στην περιφέρεια, όπου έχουν σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της ενέργειας, και στον εγκέφαλο. Ο TORC 1 είναι ο πιο διαδεδομένος και με την υψηλότερη συγκέντρωση παράγοντας στον εγκέφαλο, ενώ στον παρακοιλιακό πυρήνα εντοπίζονται και οι τρεις υποκατηγορίες του TORC. Παρόλα αυτά, ο TORC 2 θεωρείται ότι είναι ο κύριος παράγοντας στη ρύθμιση της μεταγραφής της CRH.(19)

Η υπερβολική παραγωγή CRH μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις, μια και εκτός από την κεντρική ρυθμιστική δράση που έχει στη λειτουργία του άξονα HPA, όπου μπορεί να προκαλέσει την υπέρμετρη ενεργοποίησή του, το πεπτίδιο επηρεάζει και άμεσα διάφορες εγκεφαλικές δομές. Έτσι, η παύση της μεταγραφής της CRH αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την ομοιόσταση του οργανισμού. Η αρνητική ρύθμιση της μεταγραφής της CRH βασίζεται σε αλλαγές στη λειτουργία διεγερτικών και κατασταλτικών νευρωνικών μονοπατιών, καθώς και στην επιρροή των γλυκοκορτικοειδών. Πέραν αυτών, όμως, ενδείξεις υποδηλώνουν τη συμμετοχή και ενδοκυτταρικών μηχανισμών ανάδρασης στη διαδικασία που αναφέρεται παραπάνω.

Σε αντίθεση με τους μηχανισμούς που βασίζονται στο cAMP, η επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στην έκφραση του γονιδίου της CRH εμφανίζει διαφορές ανάλογα με τον ιστό που μελετάται. Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν αρνητική επιρροή στον έκφραση του CRH στον υποθάλαμο. Τα ίδια γλυκοκορτικοειδή, όμως, προκαλούν την αύξηση της δραστηριότητας του υποκινητή του γονιδίου της CRH σε κύτταρα του πλακούντα.

Πειραματικά, η καταστολή της μεταγραφής της CRH στον υποθάλαμο από τα γλυκοκορτικοειδή είναι γνωστή. Όμως ο μοριακός μηχανισμός με το οποίο επιτυγχάνεται αυτή η καταστολή δεν είναι πλήρως γνωστός.(19) Παρότι υπάρχουν έρευνες που καταγράφουν άμεση επιρροή των γλυκοκορτικοειδών στον υποκινητή της CRH, αυτές έχουν γίνει σε κυτταρικές σειρές που δεν είναι χαρακτηριστικές των νευρώνων του υποθαλάμου. Ο υποκινητής δεν παρουσιάζει κάποιο κλασσικό

στοιχείο απόκρισης στα γλυκοκορτικοειδή (GRE) αλλά θεωρείται πώς τα γλυκοκορτικοειδή ελέγχουν την έκφραση του γονιδίου μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεϊνών (protein-protein interaction) ή μέσω άμεσης πρόσδεσης σε στοιχεία απόκρισης. Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι τα γλυκοκορτικοειδή ασκούν αρνητική ρύθμιση στην ενεργοποίηση του υποκινητή της CRH από το cAMP. Αυτή η αρνητική ρύθμιση δεν παρατηρείται υπό βασικές συνθήκες, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι η απόκριση στα γλυκοκορτικοειδή εξαρτάται από την αλληλεπίδρασή τους με κάποιο μεταγραφικό σύμπλοκο που σχετίζεται με το CRE.

Σε περιπτώσεις επίμυων με επινεφριδεκτομή, παρουσιάζεται, μακροπρόθεσμα, αύξηση της μεταγραφής της CRH με ταυτόχρονη μείωση του ρυθμού αποσύνθεσης του mRNA. Αυτό υποδεικνύει τη διττή δράση των γλυκοκορτικοειδών στα επίπεδα mRNA της CRH, τόσο μέσω της άμεσης καταστολής της διαδικασίας της μεταγραφής, όσο και της μείωσης της σταθερότητας του mRNA.(20)

Επιπλέον της PKA, η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) συμμετέχει, επίσης, στον έλεγχο της έκφρασης του γονιδίου της CRH. Ενεργοποίηση του μονοπατιού της PKC οδηγεί στην πρόσδεση AP-1 (πρωτεΐνες Fos/Jun) στα σημεία πρόσδεσης AP-1 του υποκινητή. Είναι ενδιαφέρον ότι μεταλλάξεις που παρεμποδίζουν την πρόσδεση του AP-1 στα προκαθορισμένα σημεία του υποκινητή, προκάλεσαν μείωση της κατασταλτικής δράσης των γλυκοκορτικοειδών. Αυτή η παρατήρηση προτείνει πώς η διαδικασία που οδηγεί στην καταστολή που προκαλούν τα γλυκοκορτικοειδή περιλαμβάνει και την πρόσδεση των AP-1 νουκλεοπρωτεϊνών στο DNA.(21)

Επιπροσθέτως, έχει επαληθευτεί η ύπαρξη ενός μεταγραφικού καταστολέα για το γονίδιο της CRH. Ο cAMP επαγόμενος πρώιμος καταστολέα (ICER) επάγεται από το cAMP και είναι μέλος της οικογένειας των ρυθμιστών των CRE (CREM) με κατασταλτική δράση. Οι CREM, CREB και ο παράγοντας ενεργοποίησης της μεταγραφής 1 (ATF-1) προσδένονται στα CRE στοιχεία του υποκινητή. Ο ICER δρα ως ανταγωνιστικός καταστολέας της CRE-εξαρτώμενης μεταγραφής. Ο ίδιος μπορεί να περιορίσει την απόκριση στο στρες μέσω της καταστολής της ενεργοποίησης του γονιδίου της CRH που εξαρτάται από το cAMP.(21)

Τέλος, όπως αναφέρθηκε ήδη, ένας περαιτέρω μηχανισμός που μετέχει στο περιορισμό της ενεργοποίησης της μεταγραφής της CRH είναι η ρύθμιση του

συνενεργοποιητή της CREB, του TORC. Η ενεργοποίηση ή απενεργοποίησή του είναι κύριας σημασίας για τη μεταγραφή. Η απενεργοποίησή του εξαρτάται από την κινάση Ser/Thr (SIK), η οποία θεωρείται ότι δρα μέσω της φωσφορυλίωσης του TORC.

Επιγενετική και CRH

Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που συμμετέχουν στον τρόπο με τον οποίο ελέγχεται η έκφραση ενός γονιδίου, είναι η επιγενετική. Ως επιγενετική ορίζεται η μελέτη των σταθερών αλλαγών στο επίπεδο της έκφρασης των γονιδίων που προκύπτουν κατά τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των κυττάρων.(22) Οι επιγενετικοί παράγοντες αλλάζουν την έκφραση των γονιδίων αλλά δεν συμμετέχουν άμεσα στη μεταγραφή. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι μείζονος σημασίας για την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση, αλλά μπορεί να εμφανιστούν και σε ώριμους ηλικιακά οργανισμούς, είτε από τυχαία αλλαγή είτε από επιρροή του περιβάλλοντος. Οι αλλαγές αυτές είναι αποκρίσεις σε αναπτυξιακές ή περιβαλλοντικές αλλαγές και αφορούν μετασυνθετικές τροποποιήσεις του DNA ή των πρωτεϊνών που σχετίζονται άμεσα με αυτό.

Ένα παράδειγμα επιγενετικής αλλαγής είναι η τροποποίηση της δομής της χρωματίνης. Το βασικό επαναλαμβανόμενο δομικό στοιχείο της χρωματίνης είναι το νουκλεόσωμα, που αποτελείται από ένα οκταμερές ιστονών γύρω από το οποίο περιτυλίγεται DNA 145-147 bp. Μέσα το οκταμερές των ιστονών υπάρχουν δύο αντίγραφα από κάθε είδος ιστονών H2A, H2B, H3 και H4. Η διαρρύθμισή τους είναι τέτοια ώστε να υπάρχει ένα τετραμερές ιστονών (H3-H4)₂ στο κέντρο και δύο H2A-H2B διμερή στην κάθε πλευρά του τετραμερούς. Αυτή η δομή είναι γνωστή ως πυρήνας του νουκλεοσώματος και οι ιστόνες αυτού το είδους μπορούν να χαρακτηριστούν συλλογικά ως πυρηνικές ιστόνες. Η κάθε ιστόνη περιλαμβάνει ένα αμινοτελικό άκρο, μια σφαιρική πτυχωτή δομή ιστόνης και ένα καρβοξυτελικό άκρο. Αυτές οι πτυχωτές δομές των ιστονών του πυρήνα δημιουργούν αλληλεπιδράσεις μεταξύ ιστονών αλλά και μεταξύ DNA και ιστονών. Η χρωματίνη εμφανίζει πολλές δομικές μορφές, από 'ανοικτή' έως άκρως 'πακεταρισμένη' διαμόρφωση. Η αναδιαμόρφωση της χρωματίνης γίνεται είτε μέσω ATP-

εξαρτώμενων συμπλόκων είτε μέσω ομοιοπολικής τροποποίησης του αμινοτελικού άκρου των πυρηνικών ιστονών. Τα αμινοτελικά άκρα των πυρηνικών ιστονών μπορούν να τροποποιηθούν μέσω διάφορων διαδικασιών, όπως ακετυλίωση, απακετυλίωση, μεθυλίωση, ουβικιτίνωση, ADP-ριβοςυλίωση και τροποποίηση μέσω πρωτεΐνης SUMO. Αυτές οι διαδικασίες επηρεάζουν τη διαμόρφωση της χρωματίνης.

Η ακετυλίωση αφαιρεί το θετικό φορτίο που φέρει η λυσίνη στόχος και μειώνει τη συγγένεια της ιστόνης με το αρνητικά φορτισμένο DNA καταλήγοντας σε μια διαμόρφωση όπου η χρωματίνη είναι λιγότερο πυκνά πακεταρισμένη. Αυτή η 'ανοικτή' διαμόρφωση της χρωματίνης θεωρείται ότι βοηθά τη διαδικασία της μεταγραφής επιτρέποντας στους μεταγραφικούς παράγοντες να συνδεθούν άμεσα στα σημεία πρόσδεσής τους στο DNA. Η ακετυλίωση του άκρου της ιστόνης δημιουργεί μια περιοχή σύνδεσης για πρωτεΐνες που περιλαμβάνουν τη δομή bromodomain, όπως η πρωτεΐνη που δεσμεύει τον CREB (CBP). Η πρωτεΐνη αυτή έχει την ικανότητα επιστράτευσης και άλλων μεταγραφικών παραγόντων, προωθώντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη γονιδιακή έκφραση.

Το ποσοστό ακετυλίωσης της ιστόνης ελέγχεται από την αλληλεπίδραση μεταξύ δύο ειδών ενζύμων, των ακετυλοτρανσφερασών των ιστονών (HATs) και των απακετυλασών των ιστονών (HDACs). Τα ένζυμα αυτά κινητοποιούνται με στόχο τη δράση τους σε υποκινητές, κάτι που επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπιδράσεων με συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες. Οι HATs και οι HDACs μπορούν επίσης να ακετυλιώσουν υποστρώματα πέραν των ιστονών, έχοντας έτσι ρόλο και στη ρύθμιση της μεταγραφής αυτής καθαυτής.

Οι δύο πιο μελετημένες HATs είναι τα λειτουργικά ομόλογα CBP (CREB binding protein) και p300. Αυτά ακετυλιώνουν όλες τις πυρηνικές ιστόνες, αλλά κυρίως τις H3/H4. Οι p300 και CBP δρουν ως συνενεργοποιητές στη μεταγραφή και επηρεάζουν έναν μεγάλο αριθμό παραγόντων που περιλαμβάνει πυρηνικούς υποδοχείς, τους μεταγραφικούς παράγοντες c-Jun, c-Fos και τον CREB. Οι προαναφερθέντες παράγοντες μετέχουν όλοι στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της CRH. Τα ορμονικά σήματα που καταλήγουν στην ενεργοποίηση της μεταγραφής επηρεάζονται επίσης από τη λειτουργία των HATs. Ο συνενεργοποιητής 1 των στεροειδικών υποδοχέων (SRC-1) ανακαλύφθηκε για

πρώτη φορά μέσω της αλληλεπίδρασής του με τον ανθρώπινο υποδοχέα προγεστερόνης. Ο συνενεργοποιητής 1 των στεροειδικών υποδοχέων μπορεί και αλληλεπιδρά με πυρηνικούς υποδοχείς για την ενεργοποίηση της μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων-στόχων. Μερικοί από αυτούς τους πυρηνικούς υποδοχείς είναι ο υποδοχέας προγεστερόνης (PR), ο υποδοχέας γλυκοκορτικοειδών (GR), ο υποδοχέας οιστρογόνων (ER), ο υποδοχέας θυροειδών (TR) και ο X υποδοχέας των ρετινοειδών (RXR). Ο SRC-1 εμφανίζει, επίσης, εγγενώς, δραστηριότητα HAT στην καρβοξυτελική περιοχή με την ικανότητα να ακετυλιώνει τις H3 και H4. Επιπροσθέτως, μπορεί και αλληλεπιδρά με τις CBP/p300.(17)

Όπως αναφέρθηκε και στην περίπτωση των γλυκοκορτικοειδών, η έκφραση του γονιδίου της CRH εμφανίζει διαφορές ανάλογα με το αν γίνεται αναφορά στον υποθάλαμο ή στο πλακούντα.(23) Είναι πιθανό οι επιγενετικοί μηχανισμοί να εμφανίζουν επίσης διαφορές και να έχουν διαφορετικές επιρροές στο γονίδιο της CRH ανάλογα με τον ιστό. Γενικά, πάντως, η ακετυλίωση των ιστονών έχει συνδεθεί με τη μεταγραφική ενεργοποίηση, ενώ οι καταστολείς των HDAC (HDACi) θεωρούνταν ότι διεγείρουν την έκφραση γονιδίων μέσω αφαίρεσης της αρνητικής επίδρασης της απακετυλίωσης των ιστονών. Σύγχρονες μελέτες παρουσιάζουν μια πιο πολύπλοκη εικόνα. Πρόσφατα όμως, έχουν ταυτοποιηθεί γονίδια που καταστέλλονται από τους HDACi. Πάραυτα, είναι, πλέον, αποδεκτό ότι το ποσοστό και το μοτίβο της ακετυλίωσης των ιστονών είναι σημαντικός παράγοντας τροποποίησης της γονιδιακής έκφρασης αλλά και της ιστοειδικότητας.

Υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που δείχνουν ότι και η έκφραση του γονιδίου της CRH μπορεί να ρυθμίζεται μέσω HDACi κατά τρόπο ιστοειδικό. Ένας συνθετικός HDACi αυξάνει τη δραστηριότητα του υποκινητή της CRH σε κύτταρα AtT20 (μια κυτταρική σειρά που έχει απομονωθεί από την υπόφυση), ενώ την καταστέλλει σε πρωτογενή κύτταρα του πλακούντα. Η διαφορετική επίδραση του καταστολέα στο γονίδιο της CRH ανάλογα με τον ιστό, υποδεικνύει ένα σύνθετο μοριακό μηχανισμό επιγενετικής βασιζόμενο στις διαδικασίες ακετυλίωσης και απακετυλίωσης.

Όπως προαναφέρθηκε, η μεθυλίωση αποτελεί μια άλλη μορφή επιγενετικής τροποποίησης της χρωματίνης. Οι βάσεις που μπορούν να μεθυλιωθούν στο DNA είναι η κυτοσίνη και η θυμίνη. Στα θηλαστικά το φαινόμενο αυτό παρουσιάζεται

κατά κύριο λόγο σε δινουκλεοτίδια της μορφής CpG (περιοχή του DNA όπου ένα νουκλεοτίδιο κυτοσίνης ακολουθείται από ένα νουκλεοτίδιο γουανίνης ακολουθώντας, γραμμικά, την 5' -> 3' φορά της αλληλουχίας). Η μεθυλίωση των κυτοσινών σε CpG δινουκλεοτίδια στο DNA αποτελεί μια καλά μελετημένη μορφή τροποποίησης της χρωματίνης. Η αλλαγή που προκαλεί στη χρωματίνη συσχετίζεται, συνήθως, με τη κλειστή μορφή της χρωματίνης και την καταστολή της έκφρασης των γονιδίων.(24) Η μεθυλίωση του γενετικού υλικού μπορεί να οδηγήσει στην επιστράτευση πρωτεϊνών δέσμευσης του μεθυλιωμένου, στη συγκεκριμένη περίπτωση, DNA, οι οποίες στη συνέχεια μειώνουν την μεταγραφική αποδοτικότητα. Επιπροσθέτως, μεθυλίωση CpG περιοχών μέσα σε αλληλουχίες στις οποίες προσδένονται μεταγραφικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσει τη συγγένεια που εμφανίζει ο παράγοντας και να οδηγήσει σε διαφοροποίηση της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Ο εγγύς υποκινητής της ανθρώπινης CRH περιλαμβάνει 9 CpG δινουκλεοτίδια. Ένα εξ αυτών εντοπίζεται μέσα στην, ευαίσθητη προς τη μεθυλίωση, CREπεριοχή. Αυτή εντοπίζεται χωρικά μεταξύ των -228bp και -221 bp του υποκινητή. Επιπλέον, ο υποκινητής βρίσκεται σε απόσταση 1000 bp από μια ενδογονιδιακή CpG νησίδα (περιοχή πλούσια σε CpG δινουκλεοτίδια). Η περιοχή αυτή μπορεί να χαρακτηριστεί ως 'όχθη' της CpG νησίδας και η μεθυλίωσή της έχει σημαντικό ρόλο στην ιστοειδική έκφραση του γονιδίου. Σε *in vitro* επίπεδο, η χρήση του καταστολέα 5-aza-2' της DNA-μεθυλοτρανσφεράσης σε υποθαλαμικά N42 κύτταρα προκαλεί αύξηση της έκφρασης του CRH mRNA. Κάτι τέτοιο υπονοεί πώς η μεθυλίωση μετέχει στην καταστολή της βασικής έκφρασης του CRH mRNA.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η επιρροή που έχει το στρες σε πρώιμη ηλικία είναι πολύ σημαντική, καθώς φέρει αλλαγές που μπορούν να διαρκέσουν για το υπόλοιπο της ενήλικης ζωής. Τα στρεσογόνα ερεθίσματα σε μια τέτοια ηλικία μπορούν να οδηγήσουν σε επιγενετικές μεταβολές όπως η μεθυλίωση. Ένα χαρακτηριστικό μοντέλο αρνητικής πρώιμης εμπειρία είναι η μητρική στέρηση. Επίμυες που έχουν υποβληθεί σε μητρική στέρηση έχουν ελεγχθεί, μετά από χρονικό διάστημα οκτώ εβδομάδων, για το ποσοστό μεθυλίωσης που εμφανίζει ο υποκινητής του γονιδίου της CRH. Τα πειραματόζωα αυτά εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό μεθυλίωσης σε δύο CpGs του υποκινητή, μία προηγουμένως

και μία εντός της CRE στα περίπου -230 bp. Η αλλαγή αυτή ήταν εμφανής στα κύτταρα του παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου.(25) Οι συγκεκριμένοι επίμυες παρουσίαζαν, υπό στρεσογόνες συνθήκες, υψηλά επίπεδα κορτικοστερόνης αλλά και CRH hnRNA στον PVN.Πιθανολογείται πως η υπομεθυλίωση του υποκινητή οδηγεί στην αύξηση αυτή της έκφρασης του γονιδίου της CRH.

Πέραν της πρώιμης αρνητικής εμπειρίας, ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι επιγενετικές αλλαγές που προκαλεί το στρες στην ενήλικη ζωή. Με αυτή τη λογική, μια άλλη έρευνα επικεντρώθηκε στην επιρροή του κοινωνικού στρες στην έκφραση του γονιδίου της CRH σε ενήλικα ποντίκια. Τα ευάλωτα στο χρόνιο κοινωνικό στρες ποντίκια παρουσίασαν μακροπρόθεσμη απομεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της CRH στον PVN.(26) Στη συγκεκριμένη περίπτωση μείωση των επιπέδων μεθυλίωσης εμφανίστηκε σε τέσσερα GrCs του υποκινητή και ένα εξ αυτών εντοπίστηκε στη θέση -226 bp, εντός του CRE.

Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου

Η ανάπτυξη του εγκεφάλου στον άνθρωπο είναι μια μακροχρόνια διαδικασία που ξεκινά την τρίτη εβδομάδα της κύησης, με τη διαφοροποίηση των πρόδρομων κυττάρων και συνεχίζει έως τα πρώτα χρόνια της ενήλικης ζωής. Μπορεί να χαρακτηριστεί ως μια σειρά πολύπλοκων και προσαρμοστικών διαδικασιών που διαδραματίζονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, με τελικό αποτέλεσμα την εμφάνιση και διαφοροποίηση εγκεφαλικών δομών και λειτουργιών. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την πρώιμη ανάπτυξη είναι η γονιδιακή πληροφορία, η λειτουργία των κυττάρων και το περιβάλλον. Οι παράγοντες αυτοί αλληλεπιδρούν και συμμετέχουν στα σημαντικά αναπτυξιακά γεγονότα που καθορίζουν τον εγκέφαλο.(27) Η ανάπτυξη του εγκεφάλου ακολουθεί συγκεκριμένη χρονική αλληλουχία και χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένα αναπτυξιακά στάδια. Οι αλλαγές που παρουσιάζει λόγω των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων εξαρτώνται από τη χρονική στιγμή στην οποία αυτά εμφανίζονται. Ένα ερέθισμα σε μια κρίσιμη αναπτυξιακή περίοδο μπορεί να έχει μια μακροχρόνια και μόνιμη επιρροή στον οργανισμό. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο φαινόμενο του εμβρυϊκού

προγραμματισμού, κατά το οποίο ερεθίσματα στις κρίσιμες φάσεις της ενδομήτριας ζωής ενεργοποιούν μια σειρά προσαρμοστικών μηχανισμών με επιπτώσεις στην έκφραση γονιδίων και συνέπειες στην ποσότητα, τη δομή (μέσω εναλλακτικού ματίσματος) και τη λειτουργία των αντίστοιχων πρωτεϊνών. Κατ' αυτόν τον τρόπο αλλαγές στο περιβάλλον έχουν άμεσες επιπτώσεις στο ΚΝΣ.

Κατά την προγεννητική ανάπτυξη του εγκεφάλου, τα πρόδρομα νευρικά κύτταρα γεννιούνται, διαφοροποιούνται και λαμβάνουν θέση από μέσα προς τα έξω χωρικά. Μεγαλύτερα κύτταρα, όπως τα πυραμιδικά, φτάνουν στην περιοχή-στόχο νωρίτερα.(28) Η εννεύρωση επιτυγχάνεται μέσω καθοδήγησης από την ακτινωτή γλοία ή από νευροτροφικούς παράγοντες που εκκρίνονται από τις περιοχές-στόχους. Όταν οι νευρώνες φτάσουν στον προορισμό τους, περίπου την 16^η εμβρυϊκή εβδομάδα, αρχίζουν να διακλαδώνονται σε μια απόπειρα δημιουργίας των σωστών συνδέσεων. Οι πλευρικοί κλάδοι του άξονα συνδέονται με διάφορες περιοχές του εγκεφάλου ήδη πριν ο νευρώνας μεταναστεύσει στην περιοχή στόχο. Οι BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor), NGF (Nerve Growth Factor), GDNF (Glia-Derived growth factor), CNTF (Ciliary Neurotrophic Factor) και IGF-1 (Insulin-like Growth Factor) επηρεάζουν τη μετανάστευση των νευρώνων. Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις των εφρινών (μόρια που έχουν την ικανότητα καθοδήγησης κυττάρων κατά τη νευρογένεση και αγγειογένεση) καθοδηγούν τους νευρώνες δημιουργώντας μια διαφορά χημικής συγκέντρωσης (κλίση συγκέντρωσης) που ακολουθούν τα προαναφερθέντα κύτταρα. Πάντως, μετά την άφιξη των νευρώνων στην περιοχή-στόχο τους, οι αυξητικοί παράγοντες συνεχίζουν να κατέχουν σημαντικό ρόλο στη διακλάδωση των δενδριτών. Στους επίμυες, η έκφραση των αυξητικών παραγόντων φτάνει το μέγιστο επίπεδο κατά την προγεννητική περίοδο, καθώς οι νευρώνες δημιουργούν τις πρώτες συναπτικές συνδέσεις και αυξάνονται με τοποκαθοριζόμενο τρόπο.

Μετά την ολοκλήρωση του αρχικού σταδίου της εννεύρωσης, περί το 50% όλων των νευρώνων καταστρέφεται στην χρονική περίοδο λίγο πριν τη γέννηση. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή απόπτωση. Σε αυτήν την περίοδο υπάρχουν μεγάλες μορφολογικές ανακατατάξεις, με στόχο την βελτιστοποίηση της συναπτικής μεταβίβασης. Μια δεύτερη περίοδος

υπερπαραγωγής και καταστροφής συνάψεων λαμβάνει χώρα κατά την περίοδο της εφηβείας.

Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου και CRH

Η δράση του στρες στην ανάπτυξη του εγκεφάλου είναι ποικιλόμορφη. Σημαντικό ρόλο παίζει, όπως έχει ήδη αναφερθεί, η αναπτυξιακή περίοδος στην οποία το έμβρυο δέχεται στρεσογόνα ερεθίσματα. Διαφορετικές μελέτες παρουσιάζουν διαφορετικές περιόδους ευαισθησίας στο στρες.(29) Σε πείραμα του O'Connor κ.α,(30) τα υψηλά επίπεδα μητρικού άγχους στην 18^η και 32^η εβδομάδα κύησης συσχετίστηκαν με συμπεριφορικά και συναισθηματικά προβλήματα στην παιδική ηλικία των απογόνων. Όμως το φαινόμενο αυτό ήταν πιο ισχυρό όταν το υψηλό μητρικό άγχος παρουσιαζόταν στην 32^η εβδομάδα κύησης. Άλλη έρευνα παρουσίασε πώς το υψηλό ρίσκο εμφάνισης σχιζοφρένειας στα παιδιά περιοριζόταν στην περίπτωση που το όποιο αρνητικό συμβάν που βίωσε η μητέρα ήταν στους τρεις πρώτους μήνες τα κύησης. Πιθανολογείται ότι τα αποτελέσματα του στρες στο έμβρυο είναι διαφορετικά, ανάλογα με τη χρονική περίοδο στην οποία πλήττεται η μητέρα κατά τη διάρκεια τα κύησης. Αυτό οφείλεται στο ότι τα εγκεφαλικά συστήματα που συμμετέχουν σε διαφορετικές γνωστικές και συμπεριφορικές λειτουργίες, ωριμάζουν σε διαφορετικά στάδια.

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ο μητρικός HPA άξονας παρουσιάζει μεγάλες αλλαγές, καθώς όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο πλακούντας εκφράζει, επίσης, το γονίδιο της CRH. Η CRH που προέρχεται από τον πλακούντα εκκρίνεται, κυρίως, στο μητρικό πλάσμα με ένα ποσοστό της να εισέρχεται και στο έμβρυο και να διεγείρει την υπόφυσή του με τελικό στόχο την απελευθέρωση κορτιζόλης από τον εμβρυϊκό μυελό των επινεφριδίων. Η πλακουντιακή CRH (pCRH) αυξάνεται καθώς εξελίσσεται η εγκυμοσύνη. Τα επίπεδά που φτάνει η pCRH στην κυκλοφορία της μητρός καθώς πλησιάζει η γέννα αντιστοιχούν σε αυτά υπό συνθήκες φυσιολογικού στρες.(31) Η κορτιζόλη εμφανίζει διαφορετική δράση στον πλακούντα, μια και συνδέεται με τον υποκινητή του γονιδίου της CRH και προωθεί τη σύνθεσή της. Η μεγάλη αυτή αύξηση στη CRH μπορεί να διεγερθεί από το μητρικό στρες και να οδηγήσει σε πρόωρη γέννα. Τα πρόωρα γεννημένα μωρά έχουν αυξημένο κίνδυνο

εμφάνισης νεογνικών προβλημάτων όπως εγκεφαλική βλάβη. Στη συνέχεια της ζωής τους έχουν υψηλό ρίσκο εμφάνισης κινητικών και αισθητικών δυσλειτουργιών, δυσκολιών στη μάθηση και συμπεριφορικών προβλημάτων.(32) Πάντως, το έμβρυο, είτε γεννηθεί πρόωρα είτε στον αναμενόμενο χρόνο, μετέχει στην ίδια του την ανάπτυξη με το να ενσωματώνει μηνύματα από το ενδομήτριο περιβάλλον. Προσπαθεί με αυτόν τον τρόπο να προετοιμαστεί για το περιβάλλον στο οποίο θα εισέλθει μετά τη γέννηση του. Η διαδικασία αυτή έχει ως στόχο να δημιουργήσει ένα φαινότυπο κατάλληλο για την αντιμετώπιση του μελλοντικού περιβάλλοντος.(33) Οι ορμόνες του στρες και οι υποδοχείς τους κατέχουν σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία.

Τα έμβρυα γυναικών που είχαν υψηλά επίπεδα pCRH κατά τον τρίτο μήνα της κύησης εμφάνιζαν μικρότερη ανταπόκριση στην σε δονητικοακουστικά ερεθίσματα που τους εφαρμόστηκαν αμέσως μετά τη μέτρηση των επιπέδων της pCRH. Εκτός αυτού, τα ίδια οκτώ εβδομάδες μετά τα γέννησή τους, εμφάνιζαν μεγαλύτερα επίπεδα φόβου.(34) Υψηλά επίπεδα CRH στο περιβάλλον του εμβρύου, που προέρχονται από την μητρική υπόφυση, και όχι από τον πλακούντα, οδηγούν σε μειωμένη ευαισθησία στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Έρευνες σε νεογέννητα μωρά στα οποία είχαν παρατηρηθεί υψηλά επίπεδα CRH στην 31^η εβδομάδα της κύησης έδειξαν την ύπαρξη μειωμένης φυσικής και νευρομυϊκής ωριμότητας. Αντιθέτως, έμβρυα τα οποία βρίσκονταν σε περιβάλλον βέλτιστων συγκεντρώσεων CRH στην 15^η εβδομάδα της κύησης, παρουσίασαν ενισχυμένη νευρωνική ωριμότητα, καθώς αποκρίθηκαν περισσότερο σε δονητικοακουστικά ερεθίσματα στα οποία υποβλήθηκαν την 25^η εβδομάδα. Σε άλλη έρευνα βρέθηκε ότι οι βέλτιστες συγκεντρώσεις CRH στην 25^η εβδομάδα κύησης συνδυάστηκαν με συμπεριφορά που χαρακτηριζόταν από μειωμένα επίπεδα φόβου σε παιδιά ηλικίας 2 μηνών.

Κατά κύριο λόγο, οι μελέτες για την επιρροή της CRH στις αρχικές μέρες μετά τη γέννα έχουν γίνει σε επίμυες και ποντίκια. Παρότι τα τρωκτικά χρησιμοποιούνται συχνά ως μοντέλα για τον έλεγχο της ανάπτυξης του εγκεφάλου τις πρώτες μέρες μετά τη γέννα, πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές από τους ανθρώπους που πρέπει να ληφθούν υπόψιν. Ως παράδειγμα, μία από τις πιο σημαντικές διαφορές είναι ότι τα τρωκτικά έχουν μικρότερη περίοδο κυοφορίας.

Γενικά, η σειρά των γεγονότων που καθορίζουν τη ωρίμανση του εγκεφάλου, κατά βάση, είναι ίδια, με τη χρονική κλίμακα (εμφάνιση και διάρκεια κάθε αναπτυξιακού σταδίου) όμως να διαφέρει σημαντικά.(35)

Στα ποντίκια, η ανάπτυξη του συστήματος του στρες στις πρώτες μέρες μετά τη γέννηση διαχωρίζεται σε δύο κύριες φάσεις. Η πρώτη φάση διαρκεί από την μέρα της γέννησης έως τη 12^η μέρα μετά τη γέννηση (post-natal day/rnd), στην οποία το σύστημα του στρες εμφανίζει μικρότερη απόκριση στα ερεθίσματα (Stress hygro-responsive period/SHRP). Η δεύτερη αναπτυξιακή φάση διαρκεί από τη 10^η-12^η rnd και μετά. Σε αυτή την περίοδο το ποντίκι έχει ξεπεράσει την SHRP.(36) Η δεύτερη αυτή φάση υποδιαιρείται σε δύο επιμέρους τμήματα: Από τη 10^η ως και τη 15^η ημέρα το νεογνό αποκρίνεται σε στρεσογόνα ερεθίσματα όταν η μητέρα του είναι απύσχα αλλά δεν αποκρίνεται όταν αυτή είναι παρούσα. Μετά τη 16^η ημέρα η παρουσία της μητέρας δεν επηρεάζει την απόκριση του νεογνού στα στρεσογόνα ερεθίσματα.(37)

Κατά την πρώτη φάση τα ποντίκια έχουν χαμηλές βασικές συγκεντρώσεις κορτικοστερόνης, ενώ οι βασικές συγκεντρώσεις ACTH είναι παρόμοιες με αυτές που αναμένονται από ένα ενήλικο άτομο. Ένας ήπιος στρεσογόνος παράγοντας δεν οδηγεί σε σημαντική αύξηση είτε της ACTH είτε της κορτικοστερόνης. Αυτό το φαινόμενο ονομάστηκε SHRP και παρατηρήθηκε για πρώτη φορά σε επίμυες. Η χρονική περίοδος της SHRP διαφέρει ανάμεσα στα ποντίκια και τους επίμυες. Στον αρουραίο η SHRP διαρκεί από την 4^η rnd έως τη 14^η rnd. Αντιθέτως, στα ποντίκια η SHRP εμφανίζεται από την 1^η rnd, ενώ η συγκέντρωση των κορτικοστεροειδών άρχισε να αυξάνεται από την 12^η rnd. Πέρα, όμως από τα γλυκοκορτικοειδή, τα οποία παρουσιάζουν χαμηλές συγκεντρώσεις στην περιφέρεια, η SHRP επηρεάζει και τις συγκεντρώσεις της CRH στον υποθάλαμο. Η έκφραση της CRH στον PVN ήταν υψηλή από την 1^η rnd και παρέμενε υψηλή και στην 12^η rnd. Το φαινόμενο της υψηλής έκφρασης CRH τις πρώτες εβδομάδες μετά τη γέννηση παρουσιάζεται και στους επίμυες.

Από την 12^η rnd και μετά παρατηρούνται μεγάλες αλλαγές στη λειτουργία του HPA άξονα. Το σύστημα στρες του ποντικίου αρχίζει, πλέον, να αποκρίνεται στα στρεσογόνα ερεθίσματα όμοια με αυτό ενός ενήλικου. Τα βασικά επίπεδα συγκεντρώσεων ACTH και κορτικοστερόνης είναι παρόμοια με αυτά ενός ενήλικου

ποντικίου και η παρουσία ενός ήπιου στρέσορα οδηγεί σε σημαντική αύξηση των δύο αυτών ορμονών. Η ευαισθησία του φλοιού των επινεφριδίων στην ACTH εμφανίζεται αυξημένη επίσης, διότι συγκεντρώνει ACTH όμοιες με αυτές που καταγράφονταν στην SHRP συνοδεύονταν, πλέον, από υψηλότερες συγκεντρώσεις κορτικοστεροειδών. Όσον αφορά τις βασικές συγκεντρώσεις της CRH, μετά την SHRP, η έκφρασή της στον PVN είναι πιο χαμηλή.

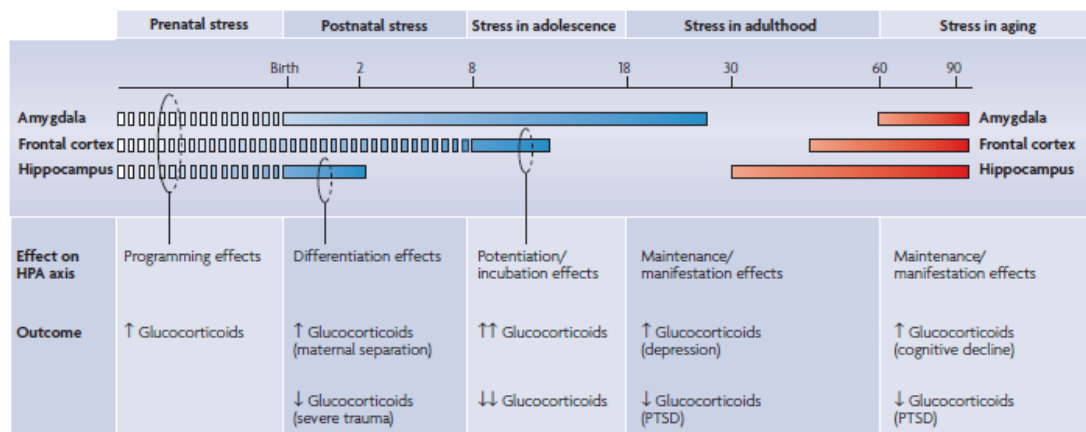
Σε περιπτώσεις όπου τα πειραματόζωα έχουν υποστεί μητρική στέρηση η εικόνα είναι πιο πολύπλοκη. Η μητρική στέρηση μπορεί να προκαλέσει την αύξηση των ACTH και κορτικοστερόνης στην περίοδο της SHRP. Χαρακτηριστικό είναι το πείραμα των Shmidt κ.α .(38): Ποντίκια εμφάνισαν μείωση των βασικών επιπέδων CRH την 9^η pnd, στην οποία εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο της μητρικής στέρησης, ενώ τα ίδια όταν επανελέγχθηκαν την 18^η pnd παρουσίασαν υψηλότερη έκφραση της ορμόνης. Μετά από ήπιο στρες, πάντως, η απάντηση είναι ίδια, ανεξαρτήτως του αν το ζώο έχει υποβληθεί σε μητρική στέρηση ή όχι. Η έκθεση στο ήπιο στρες δεν εμφανίζει κάποια μεταβολή στη συγκέντρωση της CRH στην 9^η pnd, ενώ στην 18^η pnd οδηγεί στην αύξησή της.

Η επιρροή τους στρες στις πρώτες μέρες μετά τη γέννηση έχει επιπτώσεις που μπορούν να ακολουθήσουν το άτομο για το υπόλοιπο της ενήλικης ζωής του. Σε τρωκτικά, το handling (διαδικασία κατά την οποία τα πειραματόζωα διαχωρίζονται από τη μητέρα τους για μικρά χρονικά διαστήματα από τη γέννηση ως τις pnd 14-21) έχει προστατευτική δράση όσον αφορά την επιρροή που θα έχουν οι μετέπειτα στρέσορες στην ενήλικη νευροενδοκρινική λειτουργία και συμπεριφορά.(39) Η μακροπρόθεσμη αυτή επίδραση του handling έχει παρατηρηθεί και σε αρουραίους ηλικίας 24-26 μηνών. Ενδιαφέρον είναι ότι ηλικιωμένοι αρουραίοι οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε handling εμφάνισαν μικρότερη δυσλειτουργία στη χωρική μάθηση και μνήμη, γνωστικό έλλειμμα χαρακτηριστικό της ηλικίας τους. Ενήλικα ζώα στα οποία είχε εφαρμοστεί το πρωτόκολλο αυτό τις πρώτες μέρες μετά τη γέννηση είχαν φυσιολογικά βασικά επίπεδα ACTH και κορτικοστερόνης. Είναι ενδιαφέρον ότι η απόκριση των συγκεκριμένων ορμονών σε κάποιον στρεσογόνο παράγοντα ήταν έντονη όμως μετά τη λήξη του, η επιστροφή της κορτικοστερόνης στα βασικά επίπεδα ήταν πιο γρήγορη. Οι αλλαγές που προκαλεί το handling στη δράση του HPA άξονα φαίνεται να σχετίζεται με τη μείωση των CRH και AVP στον PVN.(39)

Σε αντίθεση με τη διαδικασία που αναφέρθηκε παραπάνω, ο μεγάλης διάρκειας διαχωρισμός από τη μάνα οδηγεί σε τροποποιημένη λειτουργία του HPA άξονα αφενός στα νεογνά (όπως αναφέρθηκε παραπάνω) και αφετέρου αυξάνει την απόκριση σε κάποιον στρέσορα αργότερα στην ενήλικη ζωή. 24 ώρες μητρικής στέρησης σε αρουραίους ηλικίας 9 ή 12 ημερών προκαλεί μείωση των CRHRs στην υπόφυση, κάτι που σχετίζεται πιθανόν με υψηλή έκκρισή της λόγω του πειράματος. Επιπροσθέτως, οι αρουραίοι αυτοί παρουσίασαν αύξηση της πυκνότητας των υποδοχέων CRH στον πρόσθιο φλοιό, στην αμυγδαλή, στον υποθάλαμο, στον ιππόκαμπο και την παρεγκεφαλίδα. Η αλλαγή αυτή δεν παρουσιάστηκε στον προμετωπιαίο φλοιό, στον υπομέλανα τόπο ή στους πυρήνες της ραφής. Πιθανώς, οι αλλαγές αυτές στην πυκνότητα των υποδοχέων CRH του μεταιχμιακού συστήματος να αντικατοπτρίζει μια μορφή ευαισθητοποίησης, η οποία προωθεί αλλαγές στο πώς θα αντιμετωπίζονται οι στρεσογόνοι παράγοντες στην μετέπειτα ζωή.(39)

Λόγω των διαφορών ανάμεσα στα τρωκτικά και τον άνθρωπο, που αναφέρθηκαν παραπάνω, τα αποτελέσματα της μητρικής στέρησης δεν μεταφράζονται εύκολα στον άνθρωπο. Έτσι, χρησιμοποιούνται πρωτεύοντα πέραν του ανθρώπου. Η ωρίμανση του εγκεφάλου τους και οι σχέσεις μεταξύ γονέα και απογόνου μοιάζουν αρκετά με του ανθρώπου. Κατά αυτό τον τρόπο χρησιμοποιούνται ως γέφυρα για τη μετάφραση των αποτελεσμάτων των τρωκτικών στον άνθρωπο. Μελέτες που έχουν γίνει σε μαϊμούδες δείχνουν ότι ο επαναλαμβανόμενος, μη αναμενόμενος διαχωρισμός από τη μητέρα, το απρόβλεπτο τάισμα από τη μητέρα ή η αυθόρμητη κακομεταχείριση από τη μάνα(40, 41) αυξάνει τις συγκεντρώσεις της CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και αλλάζει την ημερήσια δραστηριότητα του HPA άξονα. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της κορτιζόλης είναι χαμηλότερα του φυσιολογικού νωρίς το πρωί και άνω του φυσιολογικού αργότερα. Το φαινόμενο αυτό εξασθενεί με το χρόνο, απουσία συνεχόμενου ψυχολογικού στρες.(40) Το φαινόμενο αυτό συνοδεύεται μακροπρόθεσμα από τα ευρήματα όπως συμπεριφορά υψηλού φόβου, υπερβάλλουσες αποκρίσεις στο ξάφνιασμα, αλλαγές στον ιππόκαμπο όπως και μη τυπική ανάπτυξη των περιοχών του προμετωπιαίου που εμπλέκονται στον έλεγχο των συναισθημάτων και της συμπεριφοράς εν γένει.

Στον άνθρωπο η δράση του χρόνιου ή επαναλαμβανόμενου στρες στα διάφορα στάδια της ζωής εξαρτάται από τις εγκεφαλικές περιοχές που αναπτύσσονται ή φθείρονται στην χρονική στιγμή που γίνεται η έκθεση στο στρέσορα. Προγεννητικά, το στρες επηρεάζει την ανάπτυξη πολλών εγκεφαλικών περιοχών που συμμετέχουν στη ρύθμιση του HPA άξονα. Οι περιοχές αυτές είναι ο ιππόκαμπος, ο πρόσθιος φλοιός και η αμυγδαλή. Το στρες μετά τη γέννηση έχει διάφορες δράσεις. Ο διαχωρισμός από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας οδηγεί σε υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών στη μετέπειτα ζωή, ενώ η ακραία κακομεταχείριση συνδέεται με μειωμένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών.(40) Επίσης, όλες οι αναπτυσσόμενες περιοχές του εγκεφάλου είναι ευαίσθητες στις ορμόνες του στρες ήδη από την προγεννητική περίοδο. Κάποιες εγκεφαλικές περιοχές, όμως έχουν πολύ υψηλό ρυθμό ανάπτυξης σε συγκεκριμένες χρονικές περιόδους -για παράδειγμα ο ιππόκαμπος αναπτύσσεται γρήγορα από τη γέννηση μέχρι την ηλικία των 2 ετών- και συνεπώς είναι πιο ευαίσθητες στο στρες εκείνη τη χρονική περίοδο.



Εικόνα 4: Η ανάπτυξη των εγκεφαλικών περιοχών στη ζωή του ανθρώπου και η επιρροή του στρες ανάλογα με τη χρονική περίοδο στην οποία εμφανίζεται.(40)

Στον άνθρωπο, θα μπορούσαμε να θεωρήσουμε ότι το αντίστοιχο του μοντέλου της μητρικής στέρησης που εφαρμόζεται στα τρωκτικά είναι τα παιδιά

που βρίσκονται σε ολόημερα εκπαιδευτήρια μακριά από το σπίτι τους. Έρευνες καταγράφουν πώς τα παιδιά αυτά εμφανίζουν αύξηση των γλυκοκορτικοειδών κατά τη διάρκεια της ημέρας, φαινόμενο πιο ισχυρό σε νήπια (toddlers) παρά σε παιδιά μεγαλύτερης προσχολικής ηλικίας. Η αύξηση αυτή των γλυκοκορτικοειδών, όμως, δεν είναι τόσο οξεία όσο αυτή που παρατηρείται στα τρωκτικά και στις μαϊμούδες που έχουν υποστεί μητρική στέρηση. Μάλιστα, η ποιότητα της φροντίδας που προσφέρουν αυτά τα κέντρα είναι σημαντικός παράγοντας στο πόσο έντονη θα είναι η μεταβολή. Έτσι, η χειρότερη φροντίδα οδηγεί σε μεγαλύτερες αυξήσεις στα επίπεδα των γλυκοκορτικοειδών και συνδέεται με το υψηλότερο ρίσκο εμφάνισης συμπεριφορικών προβλημάτων, μετέπειτα στη ζωή. Αντιθέτως, σε πιο ακραίες περιπτώσεις στέρησης στους ανθρώπους, όπως π.χ. τα ορφανοτροφεία, περιπτώσεις παραμέλησης και κακοποίησης, τα παιδιά αυτά παρουσιάζουν χαμηλά βασικά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών. Τα αποτελέσματα αυτά είναι όμοια αυτών που έχουν παρατηρηθεί και σε άλλα πρωτεύοντα. Η υποκορτιζολαιμία αυτή πιθανώς να οφείλεται σε μειорύθμιση του HPA άξονα στο επίπεδο της υπόφυσης, ως απόκριση στη χρόνια έκκριση CRH από τον υποθάλαμο. Μια άλλη πιθανότητα είναι οι ιστοί-στόχοι να έχουν αναπτύξει υπερευαισθησία στα γλυκοκορτικοειδή.

Επιπροσθέτως, η αλληλεπίδραση γονιού-απογόνου έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία του HPA άξονα. Στις αρχές του πρώτου έτους της ζωής, η προσεκτική μέριμνα του βρέφους συσχετίζεται με μικρότερες αυξήσεις στη λειτουργία του HPA άξονα ή με μικρότερης διάρκειας ενεργοποίησής του, κατά την έκθεση στους ημερήσιους στρεσογόνους παράγοντες. Παράλληλα η ψυχολογική κατάσταση της μητέρας και αυτή σημαντική, καθώς έρευνες δείχνουν ότι παιδιά που ανατράφηκαν από μητέρες που έπασχαν από κατάθλιψη είχαν υψηλότερο ρίσκο να εμφανίσουν αυξημένη λειτουργία του HPA άξονα. Επίσης, τα παιδιά αυτά έχουν και υψηλό ρίσκο εμφάνισης κατάθλιψης κατά την εφηβεία.

Γενικά, όπως έχει καταγραφεί και παραπάνω, στην παιδική ηλικία, ο υπόκαμπος αποτελεί την πιο ευαίσθητη περιοχή για το χρόνιο στρες. Πιθανόν, η επιρροή του στρες στη συγκεκριμένη περιοχή να προκύπτει από την υψηλή επίδραση της CRH στον υπόκαμπο.(40) Επειδή ο υπόκαμπος ρυθμίζει τη λειτουργία του HPA άξονα και είναι η πλέον ευαίσθητη περιοχή κατά την παιδική ηλικία, τα αυξημένα βασικά επίπεδα κορτιζόλης που παρατηρούνται σε άτομα που

έχουν υποστεί μητρική στέρηση πιθανώς να οφείλονται σε αλλαγές στη λειτουργία του..(40)

Η εφηβεία είναι μια χρονική περίοδος που χαρακτηρίζεται από πολλές ψυχολογικές και φυσιολογικές αλλαγές. Αυτό περιλαμβάνει και τον τρόπο απόκρισης ενός ατόμου στο στρες. Κατά τη διάρκειά της παρουσιάζονται αλλαγές στον HPA άξονα, οι οποίες οδηγούν σε αυξημένες ορμονικές αποκρίσεις στο στρες.(42) Επειδή, όπως έχει αναφερθεί ήδη, συγκεκριμένες μεταιχμιακές και φλοιϊκές περιοχές του εγκεφάλου αναπτύσσονται ακόμα κατά τη εφηβεία, η απόκριση που θα έχει ο οργανισμός σε κάποιο στρεσογόνο παράγοντα θα έχει επιρροή η οποία θα προεκτείνεται και στην ενήλικη ζωή.

Στα τρωκτικά, οι αλλαγές στον HPA άξονα στην εφηβεία είναι πιο λεπτεπίλεπτες σε σχέση με την οξεία αύξηση που παρουσιάζουν οι γοναδοτρόπες ορμόνες την ίδια χρονική περίοδο. Τα βασικά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών και ACTH μένουν σταθερά κατά την εφηβεία, αλλά η ποσότητα και η διάρκεια έκκρισης των ορμονών αυτών μετά την εμφάνιση στρέσορα αλλάζουν. Αρουραίοι, τόσο θηλυκοί όσο και αρσενικοί, στην έναρξη της εφηβείας, ηλικίας περί των 30 ημερών, εμφανίζουν μεγαλύτερης διάρκειας αποκρίσεις ACTH και κορτικοστερόνης παρουσία στρεσογόνου παράγοντα, σε σχέση με τα ενήλικα άτομα. Οι ορμονικές αυτές αποκρίσεις δεν μεταβαίνουν σταδιακά στα ενήλικα πρότυπα κατά την εξέλιξη της εφηβείας, αλλά παρουσιάζουν απότομες αλλαγές. Για παράδειγμα, οι αποκρίσεις της κορτικοστερόνης στο στρες ακολουθούν πρώτες το ενήλικο πρότυπο και στη συνέχεια το υιοθετούν και οι αποκρίσεις ACTH. Οι μηχανισμοί οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις αλλαγές αυτές δεν είναι ξεκάθαροι. Θεωρείται ότι περιλαμβάνουν τόσο τους μηχανισμούς ενεργοποίησης του HPA αλλά και τους μηχανισμούς ανατροφοδότησής του. Πειράματα σε ζώα δείχνουν ότι η νευρωνική δραστηριότητα των κυττάρων που περιέχουν CRH στον PVN είναι υψηλότερη στα εφηβικά άτομα παρά στα ενήλικα. Πιθανώς, οι μεγάλης διάρκειας αποκρίσεις της κορτικοστερόνης και της ACTH να οφείλονται στην υψηλή παραγωγή και απελευθέρωση CRH λόγω του στρες. (42) Εκτός αυτού, έρευνες έχουν δείξει ότι προηγούμενη χορήγηση του συνθετικού γλυκοκορτικοειδούς δεξαμεθαζόνη σε αρουραίους προεφηβικής ηλικίας δεν έχει μεγάλη επίδραση στην απόκριση της κορτικοστερόνης, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με τα ενήλικα άτομα. Αυτό οδηγεί

στην εικασία ότι το σύστημα αρνητικής ανατροφοδότησης των γλυκοκορτικοειδών στον HPA άξονα είναι διαφορετικό ανάμεσα στα ενήλικα άτομα και σε αυτά που είναι κοντά στην εφηβεία. Συγκεκριμένα, το σύστημα αρνητική ανατροφοδότησης των γλυκοκορτικοειδών δεν είναι τόσο ισχυρό στην περιεφηβική ηλικία όσο στην ενήλικη ζωή. Γνωστό επίσης είναι ότι οι ορμόνες του φύλου επηρεάζουν την απόκριση ορμονών του στρες, τόσο σε ενήλικα ζώα όσο και ενήλικους ανθρώπους. Παρόλα αυτά, πειράματα σε ζωικά μοντέλα, δείχνουν ότι ανεξαρτήτως των παρεμβάσεων που πραγματοποιούνται, τα προεφηβικά άτομα συνεχίζουν να παρουσιάζουν υψηλότερες αποκρίσεις γλυκοκορτικοειδών και ACTH σε σχέση με τα ενήλικα.

Στον άνθρωπο, έχει παρατηρηθεί αναπτυξιακή αύξηση της καρδιαγγειακής απόκρισης στο στρες, κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Άτομα ηλικίας 15-17 ετών είχαν μεγαλύτερη καρδιαγγειακή απόκριση στο στρες, σε σύγκριση με άτομα ηλικίας 8-10 ετών.(43) Σε σχέση με τα παιδιά, οι έφηβοι παρουσιάζουν πιο υψηλή πίεση αίματος και καρδιακή παροχή, κάτι που πιθανώς οφείλεται σε μεγαλύτερη β-αδρενεργική δραστηριότητα, ως απόκριση σε στρεσογόνους παράγοντες. Σε βασικές καταστάσεις όμως, η συμπαθητική δράση στην καρδιακή ρύθμιση ήταν λιγότερη. Επιπροσθέτως, στην εφηβεία έχει παρατηρηθεί υψηλότερη 24ωρη πίεση αίματος ως απόκριση στις καθημερινές προκλήσεις σε σύγκριση με μικρότερες ηλικίες. Μακρόχρονες και διατμηματικές μελέτες σε ανθρώπους δείχνουν πώς τα βασικά επίπεδα κορτιζόλης είναι υψηλότερα στους μεγαλύτερους σε ηλικία έφηβους. Τα αποτελέσματα αυτά είναι πιο χαρακτηριστικά στις κοπέλες και συγκεκριμένα στα πρωινά επίπεδα συγκεντρώσεων της κορτιζόλης. Κάτι τέτοιο υπονοεί πώς ο κερκαδικός ρυθμός που θα ακολουθείται στην ενήλικη ζωή, ωριμάζει κατά την εφηβεία. Μελέτες που υποστηρίζουν τα προαναφερθέντα καταγράφουν αύξηση της απόκρισης της κορτιζόλης στη CRH σε υγιή κορίτσια, καθώς αυτά μεγάλωναν μέσα στην εφηβεία.(43)

Η εφηβεία αποτελεί, επίσης, και μια περίοδο στην οποία οι επιδράσεις των προηγούμενων στρεσογόνων εμπειριών αρχίζουν να γίνονται φανερές. Έφηβοι οι οποίοι μεγάλωσαν σε κακές οικονομικές συνθήκες ή έφηβοι των οποίων οι μητέρες έπασχαν από επιλόχεια κατάθλιψη έχουν υψηλότερα βασικά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών. Παρότι το στρες της πρώιμης ηλικίας στα τρωκτικά βλάπτει τη

φυσιολογική ανάπτυξη του ιπποκάμπου στα μετέπειτα στάδια της ζωής, κάτι τέτοιο δεν φαίνεται να υποστηρίζεται από πολλά στοιχεία στους ανθρώπους. Έφηβοι οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε φυσική ή σεξουαλική κακοποίηση ως παιδιά δεν παρουσίαζαν χαμηλότερο μέγεθος ιπποκάμπου (σε σχέση με το συνολικό μέγεθος του εγκεφάλου). Τα αποτελέσματα αυτά παρέμεναν ακόμα και σε εφήβους που εμφάνιζαν με PTSD, όπου παρότι ο συνολικός όγκος του εγκεφάλου μειώθηκε, το αναλογικό μέγεθος του εγκεφάλου δεν άλλαξε. Αντιθέτως, έφηβοι με ιστορικό αρνητικών εμπειριών στα πρώτα στάδια της ζωής έδειξαν αλλαγές στην ποσότητα φαιάς ουσίας, στη νευρωνική λειτουργία του πρόσθιου φλοιού και μείωση του μεγέθους του πρόσθιου φλοιού του προσαγωγίου. Αυτά τα ευρήματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στον άνθρωπο, η πιο ευαίσθητη στο στρες εγκεφαλική περιοχή κατά την εφηβεία είναι ο πρόσθιος φλοιός. Κάτι τέτοιο υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι η δομή αυτή συνεχίζει να αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Τέτοιες αλλαγές στον πρόσθιο φλοιό μπορεί να οδηγούν σε μια μεγάλης χρονικής διάρκειας απόκριση των γλυκοκορτικοειδών στο στρες κατά την ενήλικη ζωή.

Υποδοχείς CRH

Οι ιστοί των θηλαστικών εκφράζουν δύο διαφορετικούς τύπους υποδοχέων CRH, τους CRHR1 και CRHR2. Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν στην κατηγορία των B1 GPCRS υποδοχέων (GPCRS-υποδοχείς συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνες) –Υποδοχείς Νευροπεπτιδίων Εγκεφάλου-Εντέρου. Οι αγωνιστές των υποδοχέων αυτής της κατηγορίας (B1 GPCRS) ρυθμίζουν αρκετά σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως ενδοκρινείς και εξωκρινείς εκκρίσεις, την ανάπτυξη, το μεταβολισμό κ.α.(44) Συγκεκριμένα, για τους CRHR2s σε περιοχές όπως VMH η δράση τους εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον.(45) Μια θεωρία είναι ότι η CRH αλληλεπιδρά με τον CRHR2 για να ελέγξει την πρόσληψη της τροφής. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι πώς οι παχύσαρκοι επίμυες της μορφής Zucker έχουν χαμηλότερα επίπεδα CRHR2 mRNA. Ο VMH αποτελεί μια από τις κύριες δομές που ελέγχουν λειτουργίες όπως τον κερκαδικό ρυθμό πρόσληψης τροφής, την έκκριση ινσουλίνης και τη φλοιοεπινεφριδιακή λειτουργία. Πιθανώς η ενεργοποίηση του CRHR2 υποδοχέα να επηρεάζει τις λειτουργίες αυτές. Στους ανθρώπους, τα μέλη αυτής της οικογένειας υποδοχέων κωδικοποιούνται από 15 γονίδια και οι συνδέτες τους είναι

πολυπεπτιδικές ορμόνες που λειτουργούν με παρακρινή ή αυτοκρινή τρόπο. Έχουν αρκετά πολύπλοκη γονιδιακή αρχιτεκτονική, καθώς τα γονίδια αποτελούνται από μεγάλο αριθμό εξωνίων και εσωνίων, κάτι που τους επιτρέπει να έχουν πολλές διαφορετικές μορφές ματίσματος του mRNA.

Δομικά, οι δύο τύποι υποδοχέων της CRH έχουν 70% ομοιότητα σε επίπεδο αμινοξέων. Παρόλα αυτά, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην αμινοτελική εξωκυτταρική περιοχή (ECD). Η διαφορά αυτή είναι στα επίπεδα του 47%, γεγονός που συμβαδίζει με τις διαφορετικές φαρμακολογικές τους ιδιότητες και ειδικότητα σύνδεσης με διαφορετικούς αγωνιστές. Ο CRHR1 δεσμεύει CRH και Ucn1 με υψηλή συγγένεια. Δεν δεσμεύει, όμως, Ucn2 ή Ucn3. Αντίθετα, ο CRHR2 δεσμεύει όλες τις Ucns με υψηλότερη συγγένεια από τη CRH. Οι αγωνιστές των CRHRs έχουν συγκεκριμένα κατάλοιπα στην αμινοξική τους αλληλουχία που είναι σημαντικά για τον καθορισμό της ειδικότητας με την οποία γίνεται η σύνδεση. Στη θέση 11 των Ucn2 και Ucn3, αποκλειστικών συνδετών του CRHR2, υπάρχει ένα κατάλοιπο προλίνης. Η αντικατάσταση της προλίνης στην αμινοξική αλληλουχία της Ucn2 με κάποιο άλλο αμινοξύ που εμφανίζεται στους μη ειδικούς αγωνιστές των CRHRs οδηγεί σε μειωμένη δυνατότητα σύνδεσης με τον CRHR2 και ταυτόχρονα αύξηση της σύνδεσης με τον CRHR1. Αντιθέτως, η εισαγωγή προλίνης στη CRH επιδρά αρνητικά στη μορφή της α -έλικας και βλάπτει την ικανότητα σύνδεσης του μορίου με τον CRHR1. Μια άλλη διαφορά που παρατηρείται στους συνδέτες των δύο υποδοχέων είναι ότι τα πεπτίδια που συνδέονται επιλεκτικά στον CRHR2 περιέχουν κατάλοιπα αλανίνης στις θέσεις 35 και 39, ενώ τα πεπτίδια που συνδέονται μη επιλεκτικά με τους CRHRs περιέχουν αργινίνη στη θέση 35 και ένα όξινο αμινοξύ στη θέση 39.(44) Όπως και προηγουμένως, η εισαγωγή αλανίνης στις θέσεις 35 και 39, με ταυτόχρονη εισαγωγή της προλίνης στη θέση 11 αυξάνει τη δυνατότητα σύνδεσης με τον CRHR2 και μείωση της δυνατότητας σύνδεσης με τον CRHR1.

Η αμινοτελική εξωκυττάρια επικράτεια (ECD) των CRHRs αποτελεί την κύρια περιοχή πρόσδεσης με τον συνδέτη. Η ECD του υποδοχέα συνδέεται με το αντίστοιχο πεπτίδιο μέσω της καρβοξυτελικής περιοχής που βρίσκεται στην υδροφοβική περιοχή των ελικών της. Οι ECDs τόσο των CRHR1 όσο και των CRHR2 περιέχουν μια πτυχή με μικρή επαναλαμβανόμενη συναινετική αλληλουχία (short consensus repeat fold), δομή χαρακτηριστική των ECDs των GPCRs της κατηγορίας

B1. Η μοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ αγωνιστή και υποδοχέα τοποθετεί το αμινοτελικό τμήμα του αγωνιστή σε κοντινή απόσταση με τις παραμεμβρανικές περιοχές, ώστε να αλληλεπιδράσει με αυτές. Η διαδικασία αυτή ενεργοποιεί τον υποδοχέα και προωθεί μια ελικοειδή δομή που βρίσκεται προς το αμινοτελικό άκρο του συνδέτη να δημιουργήσει μια διαμόρφωση ενεργής κατάστασης. Η ECD του CRHR2 περιέχει μια ξεχωριστή δομή α-έλικας. Η επιλογή του συνδέτη επιτυγχάνεται μέσω ενός μηχανισμού που βασίζεται στη συμβατότητα του φορτίου. Ο μηχανισμός αυτός εμπλέκει μια και μόνο αμινοξική διαφορά στους υποδοχείς, η οποία βρίσκεται κοντά στο πεπτιδικό κατάλοιπο 35. Η γλουταμίνη θέσης 104 του CRHR1 δρα ως φίλτρο που εμποδίζει τη σύνδεση με τις Ucn2, Ucn3, καθώς η μη πολική αλανίνη στη θέση 35 των ορμονών είναι ασύμβατη με την αρνητικά φορτισμένη γλουταμίνη.

Η αλληλεπίδραση της αμινοτελικής ECD με τον αντίστοιχο αγωνιστή δεν είναι από μόνη της επαρκής για την έναρξη της μεταβίβασης του μηνύματος. Ένα άλλο απαραίτητο βήμα για την έναρξη της μεταβίβασης του μηνύματος είναι η συμμετοχή της παραμεμβρανικής περιοχής του υποδοχέα, η οποία αποτελείται από τις διαμεμβρανικές έλικες και τους παρεμβαλόμενους βρόγχους. Αυτή είναι γνωστή ως περιοχή J. Η περιοχή αυτή αλληλεπιδρά με το αμινοτελικό τμήμα του αντίστοιχου πεπτιδίου και οδηγεί στη διείσδυσή του στις διαμεμβρανικές περιοχές (TMDs) του υποδοχέα. Οι J περιοχές των CRHR1 και CRHR2 διαφέρουν στη δραστηριότητά τους. Για παράδειγμα, στη διαμόρφωση R, κατά την οποία οι G πρωτεΐνες δεν είναι συνδεδεμένες με τον υποδοχέα, η J περιοχή του CRHR2 δεσμεύει τους συνδέτες πολύ πιο ισχυρά από τη J περιοχή του CRHR1. Έρευνες δείχνουν ότι η αλληλεπίδραση του αγωνιστή με τη J περιοχή του CRHR1 σταθεροποιεί σε μικρό βαθμό τη σύνδεση του αγωνιστή, ενώ η σύνδεση του υποδοχέα με κάποιες G πρωτεΐνες σταθεροποιεί σε μεγάλο βαθμό την αλληλεπίδραση της περιοχής J με τον αγωνιστή και τη συγγένεια του υποδοχέα με αυτόν. Η επίδραση αυτή των G πρωτεϊνών επιτυγχάνεται μέσω αλλοστερικής ρύθμισης. Η συγγένεια των ανταγωνιστών που δεν είναι πεπτίδια (non-peptide) και η συνολική δράση τους εν γένει, καθορίζονται κυρίως από την περιοχή J. Επιπροσθέτως, όταν η ECD εκφράζεται ξεχωριστά, δεσμεύει αγωνιστές με συγγένεια όμοια της χαμηλής που παρατηρείται στην R διαμόρφωση του υποδοχέα.

Αντιθέτως, έχει δειχθεί ότι η περιοχή J από μόνη της, διαμεσολαβεί την πλήρη σύνδεση μη πεπτιδικών ανταγωνιστών υψηλής συγγένειας καθώς και τη σχεδόν πλήρη ενεργοποίηση του υποδοχέα από πεπτιδικούς αγωνιστές. Εκτός αυτού, οι αγωνιστές του υποδοχέα CRHR1, όπως είναι η CRH, αλλά και οι ανταγωνιστές του, απαιτούν αλληλεπιδράσεις με τους εξωκυττάριους βρόγχους (ECL) και τη διαμεμβρανική περιοχή για σύνδεση υψηλής συγγένειας. Μέσα στην περιοχή J του CRHR1 έχουν εντοπιστεί υποπεριοχές με σημαντικό ρόλο στη βέλτιστη σύνδεση με τους αγωνιστές. Έρευνες πάνω στη δυνατότητα σύνδεσης της CRH στον CRHR1 που κάνουν χρήση αλλοστερικών ρυθμιστών προτείνουν ένα συγκεκριμένο μοντέλο ενεργοποίησης του υποδοχέα. Το μοντέλο αυτό αναφέρει πως ο υποδοχέας μπορεί να βρεθεί σε τρεις διαφορετικές καταστάσεις, μια απενεργοποιημένη, μια ασθενώς ενεργοποιημένη και μια πλήρως ενεργοποιημένη. Οι αγωνιστές αντίστροφης αλλοστερικής ρύθμισης σταθεροποιούν τη μη ενεργοποιημένη κατάσταση, οι αλλοστερικοί αγωνιστές σταθεροποιούν την ασθενώς ενεργοποιημένη μορφή ενώ ο ανταγωνισμός της μετάδοσης του σήματος από τον CRHR1 προκύπτει από την αποσταθεροποίηση της πλήρως ενεργοποιημένης κατάστασης. Οι μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές του CRHR1 που δεσμεύονται στη περιοχή J μπορούν να εμποδίσουν την σύνδεση κάποιου πεπτιδικού αγωνιστή αλλά και την αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τις G πρωτεΐνες. Αντίθετα, η δέσμευση ενός πεπτιδικού ανταγωνιστή, κυρίως στην N-περιοχή δεν επηρεάστηκε από τη σύνδεση υποδοχέα- G πρωτεϊνών.

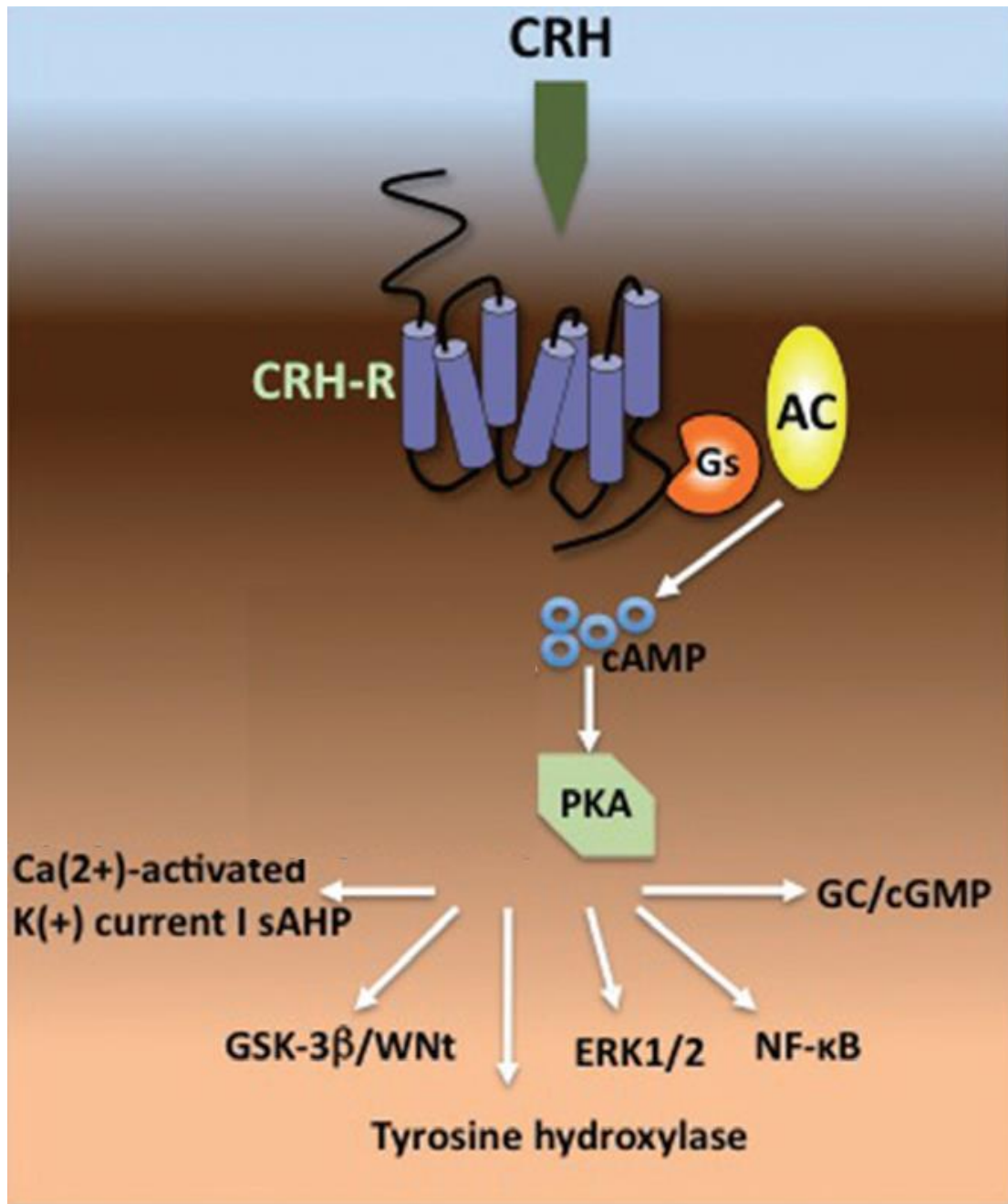
Η περιοχή J του CRHR2 αλληλεπιδρά και αυτή με τους αγωνιστές και ανταγωνιστές του ιδίου υποδοχέα. Πειράματα έχουν δείξει ότι η περιοχή J του CRHR2 καθορίζει την εκλεκτικότητα του υποδοχέα προς τον συνθετικό ανταγωνιστή του antisauvagine-30, ενώ η αμινοτελική ECD συμμετέχει στον καθορισμό της εκλεκτικότητας για την Ucn3. Στην περίπτωση της Ucn2 η εκλεκτικότητα καθορίζεται τόσο από την περιοχή J όσο και από την αμινοτελική ECD. Κατά αυτόν τον τρόπο, με βάση τις περιοχές τους που δραστηριοποιούνται, οι υποδοχείς εμφανίζουν διαφορετική εκλεκτικότητα για τον κάθε συνδέτη. Σε αντίθεση με τον CRHR1, η περιοχή J του CRHR2 σταθεροποιεί τη δομή του υποδοχέα, κάτι που αυξάνει κατακόρυφα τη συγγένειά του για την Ucn2. Στον CRHR2, επίσης, η σύνδεση με τις Gπρωτεΐνες αυξάνει κατά πολύ μικρό βαθμό τη συγγένεια με την Ucn2. Τα

παραπάνω οδηγούν στην υπόθεση ότι η Περιοχή του CRHR2 είναι ο κύριος καθοριστής της δυνατότητας του υποδοχέα να δεσμεύει τη Ucn2.

Οι CRHRs, ως μέλη της GPCR οικογένειας, έχουν τη δυνατότητα να συνδέονται σε πρωτεΐνες που είναι δεσμευμένες με GDP/GTP. Έρευνες που χρησιμοποίησαν φλοιό ποντικών, αλλά και κύτταρα HEK293 με υπερέκφραση CRHRs, δείχνουν ότι οι υποδοχείς της CRH έχουν τη δυνατότητα ενεργοποίησης πολλών υποκατηγοριών των Gα συμπεριλαμβανομένων των Gαs, Gαo, Gαq/11, Gαi_{1/2} και Gαz.

Οι πληροφορίες για τις δομικές περιοχές των CRHRs που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση με τις G πρωτεΐνες είναι λίγες. Έρευνες στους μοριακούς μηχανισμούς αλληλεπίδρασης του CRHR1 με τις Gπρωτεΐνες, προτείνουν ένα μοντέλο στο οποίο η ενεργοποίηση του συγκεκριμένου υποδοχέα επιτυγχάνεται μέσω τη σύνδεσης κάποιου αγωνιστή με τουλάχιστον δύο διαμορφώσεις της περιοχής J, οι οποίες με τη σειρά τους μπορούν να δεσμεύονται είτε σε Gs είτε σε Gi. Τα προηγούμενα υποστηρίζουν την ύπαρξη συγκεκριμένων ενεργοποιημένων διαμορφώσεων των περιοχών J με ειδική δράση ως προς τις πρωτεΐνες G.

Οι περισσότερες φυσιολογικές λειτουργίες της CRH και των ουροκορτινών στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ γίνονται μέσω σύνδεσης του υποδοχέα με Gαs πρωτεΐνες. Όπως έχει αναφερθεί και στην περίπτωση της μεταγραφής της CRH, η μεταφορά του μηνύματος επιτυγχάνεται μέσω διέγερσης του μονοπατιού του cAMP/PKA. Το μονοπάτι αυτό αποτελεί έναυσμα για ενδοκυττάρια γεγονότα που λαμβάνουν χώρα στο κυτταρόπλασμα, με αποτέλεσμα τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών στόχων από την PKA, αλλά και στον πυρήνα, στο επίπεδο της ρύθμισης της μεταγραφής των γονιδίων από στοιχεία απόκρισης στο cAMP (CRE). Επιπλέον, ανάλογα με το τύπο κυττάρου που μελετάται, τα αποτελέσματα του προαναφερθέντος μονοπατιού, που τίθεται σε δράση μετά την ενεργοποίηση του CRHR1, μπορεί να προκύψουν μέσω ενεργοποίησης άλλων σηματοδοτικών μορίων, όπως ο NF-κB, οι ERK1/2 και η τυροσινική υδροξυλάση, και το μονοπάτι της κινάσης 3 της συνθάσης του γλυκογόνου και των Wnt/β-catenin.



Εικόνα 5: Ο ρόλος του μονοπατιού του cAMP/PKA στη μεταγωγή του σήματος μετά από ενεργοποίηση του CRHR.(44)

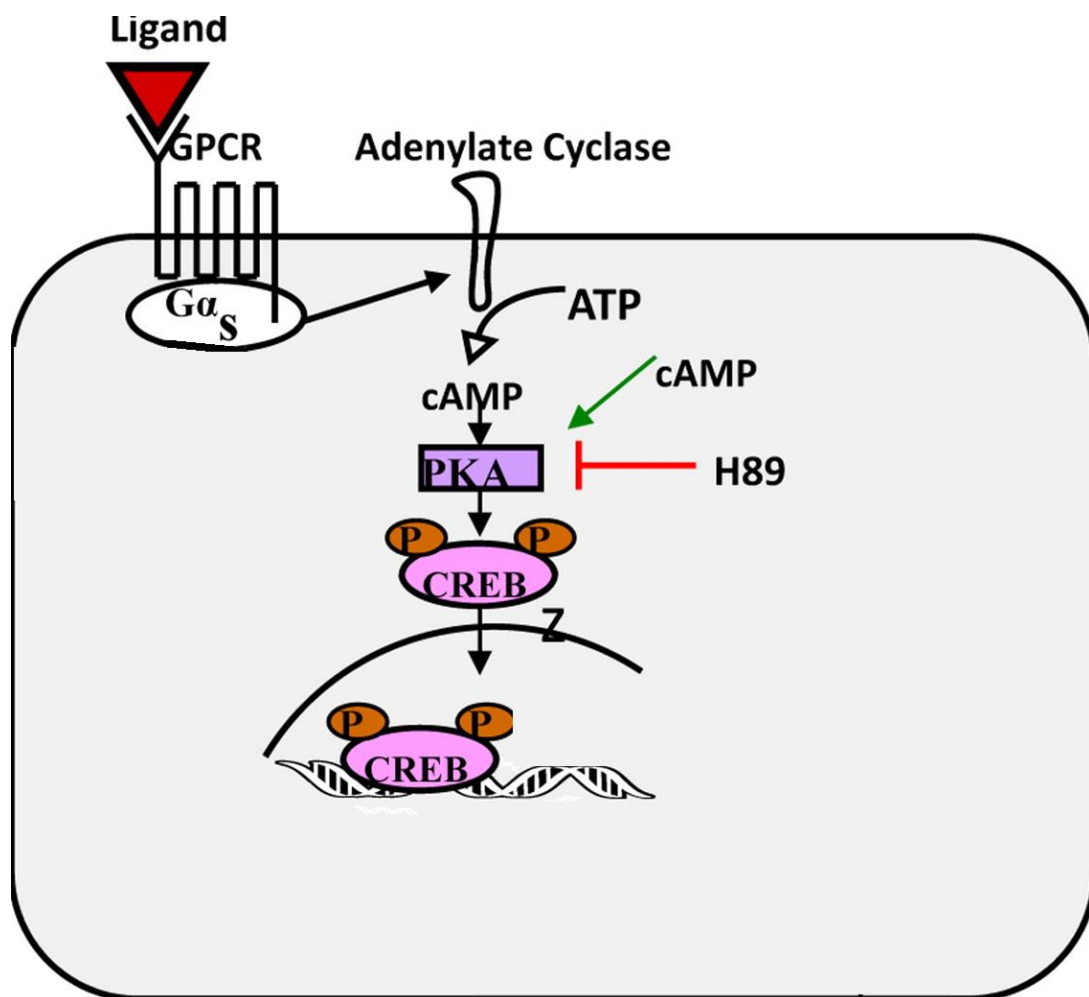
Τα μέλη της οικογένειας MAPK (όπως οι ERK1/2 και p38 MAPK) έχουν καταγραφεί ως σημαντικοί διαμεσολαβητές της επιρροής των CRH και Ucn στο ΚΝΣ και ΠΝΣ. Μετά την ενεργοποίηση ενός CRHR οι MAPKs μεσολαβούν σε δράσεις όπως συμπεριφορικές και μνημονικές προσαρμογές στο στρες καθώς και νευροπροστασία. Οι κινάσες αυτές μπορούν να διεγερθούν από την ενεργοποίηση ενός εκ των δύο τύπων CRHRs (CRHR1 και CRHR2) από κάποιο αγωνιστή. Οι

αγωνιστές παρουσιάζουν μια επιλεκτικότητα ως προς τα κύτταρα που ενεργοποιούν, κάτι που, πιθανώς, οφείλεται στους διαφορετικούς μηχανισμούς που ενεργοποιούν τις MPAKs. Το μονοπάτι cAMP/PKA δεν είναι ο μοναδικός τρόπος με τον οποίο οι CRHRs ρυθμίζουν τη φωσφορυλίωση των MAPKs. Κύτταρα που υπερεκφράζουν υποδοχείς της CRH έχουν τη δυνατότητα να διεγείρουν τις ERK1/2 μέσω μηχανισμών ανεξάρτητων της PKA. Μερικοί από τους μηχανισμούς αυτούς είναι το μονοπάτι $G_{\alpha q}$ -IP₃-PKC και η διενεργοποίηση της τυροσινικής κινάσης από τον Gβγ υποδοχέα.

Σε διάφορα φυσιολογικά συστήματα, η CRH και οι συγγενικοί αγωνιστές της είναι κύριοι ρυθμιστές του μονοπατιού NO/cGMP. Στον ανθρώπινο πλακούντα η ενεργοποίηση του CRHR1 διεγείρει την έκφραση και ενεργοποίηση της ενδοθηλιακής ισομορφής της συνθετάσης του NO. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω ενός μονοπατιού που είναι ανεξάρτητος των $G_{\alpha s}$ πρωτεϊνών και PKA. Η αλληλεπίδραση αυτή καταλήγει στον αυξημένο σχηματισμό ενδοκυττάριου NO και την επαγωγή διαφόρων ενδοκυτταρικών γεγονότων. Τα γεγονότα αυτά περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της διαλυτής μορφής της γουανυλικής κυκλάσης και την παραγωγή ενός 2^{ου} μηνύματος, του cGMP.

Αναλυτικότερα, η μετάδοση του σήματος μετά την ενεργοποίηση κάποιου CRHR μπορεί να επιτευχθεί μέσω διαφόρων μονοπατιών. Με βάση τις περισσότερες έρευνες, ο κύριος τρόπος μεταγωγής σήματος του CRHR1 είναι μέσω της αδενυλικής κυκλάσης και της PKA. Η σύνδεση της CRH ή της Ucn1 στον CRHR1 που είναι ενσωματωμένος στη μεμβράνη αλλάζει τη διαμόρφωση του υποδοχέα από ανενεργή σε ενεργή όσον αφορά τη δυνατότητα μεταβίβασης σήματος. Έτσι αυξάνεται η συγγενειά του με τη G_s , μια ετεροτριμερή διεγερτική πρωτεΐνη που δεσμεύει το GTP. Η σύνδεση της υπομονάδας α της G_s στον τρίτο ενδοκυττάριο βρόγχο του ενεργοποιημένου από τον αγωνιστή υποδοχέα διεγείρει τη δραστηριότητα της αδενυλικής κυκλάσης. Αυτή με τη σειρά της εκκινεί την παραγωγή του δεύτερου μηνυματοφόρου μορίου, του cAMP. Η μεταφορά του μηνύματος μέσω αλληλεπίδρασης G_s και CRHR1 οδηγεί στην ενεργοποίηση της PKA, μέσω της δράσης του cAMP. Στη συνέχεια, ακολουθεί σειρά γεγονότων, όπως η φωσφορυλίωση του CREB. Ομοίως, η σύνδεση ενός αγωνιστή στον CRHR2 μπορεί να καταλήξει στη χρήση του ίδιου, cAMP-PKA, μονοπατιού. Παρότι η πλειοψηφία

των μελετών παρουσιάζουν το μονοπάτι αυτό ως το κύριο για του υποδοχείς της CRH, υπάρχουν και άλλες μέθοδοι μεταγωγής σήματος.(46)

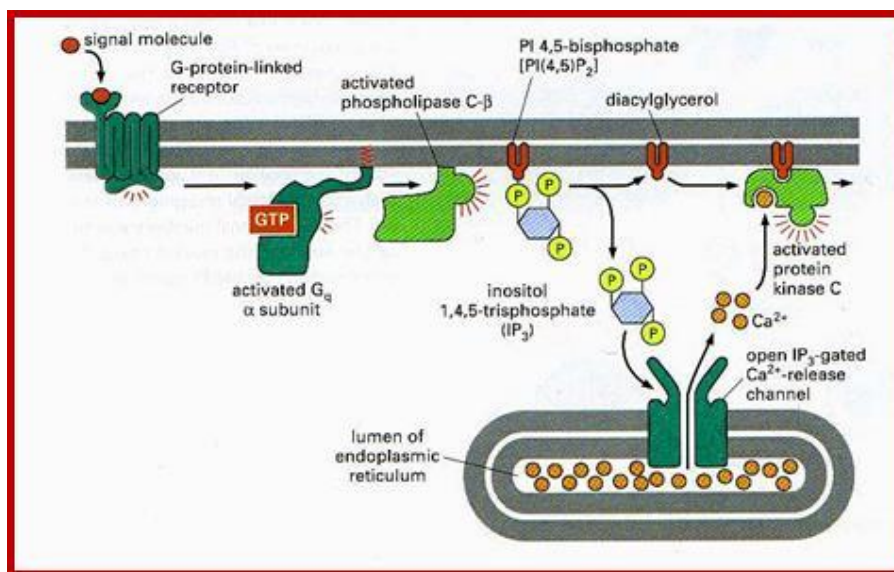


Εικόνα 6: Το μονοπάτι cAMP/PKA και η φωσφορυλίωση του CREB(47)

Στα AtT20 κύτταρα η σηματοδότηση του CRHR1 υποδοχέα μέσω του μονοπατιού cAMP-PKA καταστέλλει τη μεταγραφική δραστηριότητα του πυρηνικού παράγοντα NF-κB μειώνοντας τη δυνατότητα δέσμευσής το στο. Οι ικανότητες αυτές του NF-κB είναι απαραίτητες π.χ. για τη μεταγραφή του γονιδίου της POMC. Άλλοι παράγοντες που συμμετέχουν στη ρύθμιση του γονιδίου της POMC μέσω CHR1 στα κύτταρα AtT20 είναι οι NGFI-B, Nur1 και Nur77, που με τη σειρά του ρυθμίζεται από τον CRHR1.

Ένα άλλο μονοπάτι που ενεργοποιείται μετά τη σύνδεση κάποιου αγωνιστή στον CRHR1 είναι αυτό της φωσφολιπάσης C (PLC) και της PKC .Αυτό επιτυγχάνεται, πιθανώς, από τη σύνδεση με τη G_q α υπομονάδα. Η CRH έχει την ικανότητα να

διεγείρει τη μετάδοση μηνύματος μέσω ασβεστίου σε αστροκύτταρα νεογέννητων αρουραίων. Η καταστολή της PLC σε HEK293 κύτταρα που εκφράζουν τους CRHR1 υποδοχείς εμποδίζει πλήρως την δράση της saunagine στον υποδοχέα, και την ακόλουθη μετάδοση σήματος μέσω ασβεστίου. Κάτι τέτοιο δεν μπορούν να προκαλέσουν ούτε η χρήση κάποιου καταστολέα της PKA ούτε η χρήση κάποιου καταστολέα του καναλιού έκκρισης ασβεστίου. Εκτός αυτού, η διέγερση με CRH κυττάρων Leydig σε αρουραίους προκαλεί τη μεταβίβαση της PKC από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη. Η κινητοποίηση αυτή του ασβεστίου, λόγω ενεργοποίησης του υποδοχέα από τη saunagine, παρατηρείται και σε HEK κύτταρα που εκφράζουν τον CRHR2. Ομοίως, η χρήση κάποιου καταστολέα της PLC αφαιρεί την ικανότητα αυτή του αγωνιστή του υποδοχέα, ενώ οι καταστολείς της PKA ή του καναλιού έκκρισης ασβεστίου δεν είχαν κάποια επίδραση. Παρόλα αυτά, η ενεργοποίηση CRHR στο ανθρώπινο νευροβλάστωμα δεν οδηγεί σε κινητοποίηση ασβεστίου. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η ύπαρξη του συγκεκριμένου μονοπατιού εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του κυττάρου.(46)

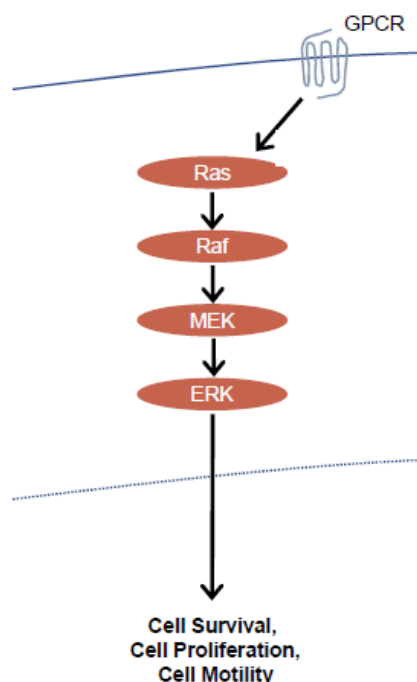


Εικόνα 7: Το μονοπάτι PLC/PKC στους GPCRs υποδοχείς(48)

Η μεταγωγή σήματος του υποδοχέα της CRH μέσω MAPKs έχει παρατηρηθεί σε νευρωνικά, καρδιακά και μυομητρικά κύτταρα. Η saunagine, αλλά όχι η ανθρώπινη CRH, ενεργοποιεί το μονοπάτι των MAPKs, σε HEK293 κύτταρα που υπερεκφράζουν τους CRHR1 υποδοχείς. Ο καταστολέας της PKA H89 παρεμπόδιζε τη φωσφορυλίωση του CREB αλλά όχι του ERK1/2 σε CHO κύτταρα που εκφράζουν τον CRHR1. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η μεταφορά μηνύματος μέσω MAPKs

από τον προαναφερθέντα υποδοχέα δεν εξαρτάται από το μονοπάτι που χρησιμοποιεί την PKA στη συγκεκριμένη κυτταρική σειρά. Αντιθέτως, η PKA, αλλά όχι η PKC, φωσφορυλιώνει την ERK1/2 στην κυτταρική σειρά AtT20. Εκτός αυτού, στα HEK293 κύτταρα που εκφράζουν τον υποδοχέα τύπου 1 της CRH, όταν εκτεθούν σε Ucn1, διεγείρεται η φωσφορυλίωση των MAPKs, πιθανώς μέσω της δράσης της PLC. Τα παραπάνω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η ενεργοποίηση των MAPKs μέσω του CRHR1 υποδοχέα, αλλά και ο τρόπος με τον οποίο αυτή γίνεται, εξαρτάται από το κυτταρικό μοντέλο που μελετάται. Πέραν του CRHR1, ο ρόλος των MAPKs έχει μελετηθεί και για τον CRHR2. Σε CHO κύτταρα που εκφράζουν τον CRHR2 υποδοχέα, η saunagine προωθεί τη φωσφορυλίωση της p44/42-MAP κινάσης (ERK1/2), αλλά όχι της κινάσης p38-MAP και της πρωτεϊνικής κινάσης JNK που ενεργοποιείται από το στρες. Η Ucn1, και όχι η ανθρώπινη CRH, επίσης προκαλεί τη φωσφορυλίωση της ERK1/2 σε CHO και HEK293 κύτταρα που εκφράζουν τον CRHR2. Η προεπεξεργασία των CHO κυττάρων που εκφράζουν τον προαναφερθέντα υποδοχέα με τον καταστολέα PD98059 της MAP κινάσης MEK1/2 σταματά τη φωσφορυλίωση στην ERK1/2 που προκαλεί η σύνδεσή του υποδοχέα με τη saunagine. Ομοίως, η προεπεξεργασία της ίδιας κατηγορίας κυττάρων με τον καταστολέα LY294002 της PI-3 κινάσης ή με τον καταστολέα U73122 της φωσφολιπάσης C εξασθενούν μερικώς τη φωσφορυλίωση της p44/42-MAP κινάσης που προωθείται από τη saunagine. Με βάση τα παραπάνω, θεωρείται ότι η ενεργοποίηση του μονοπατιού των MAPKs από τον CRHR2 εξαρτάται από το ασβέστιο και τη IP-3 κινάση. Επιπρόσθετες έρευνες πάνω σε κύτταρα A7r5 και καρδιομυοκύτταρα νεογέννητων ποντικών που εκφράζουν CRHR2_(b) υποδοχείς δείχνουν ότι η Ucn1 μπορεί και διεγείρει τη φωσφορυλίωση της ERK1/2, πιθανώς μέσω μηχανισμών που κάνουν χρήση της φωσφολιπάσης C, της MEK1-MAP κινάσης ή της κινάσης PI-3. Η χρήση κάποιου καταστολέα της Ras ή κάποιου καταστολέα της Raf1 κινάσης στα καρδιομυοκύτταρα διακόπτει τη φωσφορυλίωση της ERK1/2 που προκαλείται από τις Ucn2 και Ucn3. Έτσι, στα καρδιομυοκύτταρα, προτείνεται το μοντέλο στο οποίο η μεταβίβαση σήματος μέσω του CRHR2 διεγείρει τη PI-3 κινάση, η οποία ενεργοποιεί το μονοπάτι Ras-Raf1 κινάσης, προκαλώντας τη φωσφορυλίωση της p42/p44-MAP κινάσης μέσω της MEK1/2. Περαιτέρω έρευνες δείχνουν ότι στο μονοπάτι στο οποίο ο CRHR2 ενεργοποιεί τις MAPKs, δεν συμμετέχει η PKA, ενώ η καταστολή της

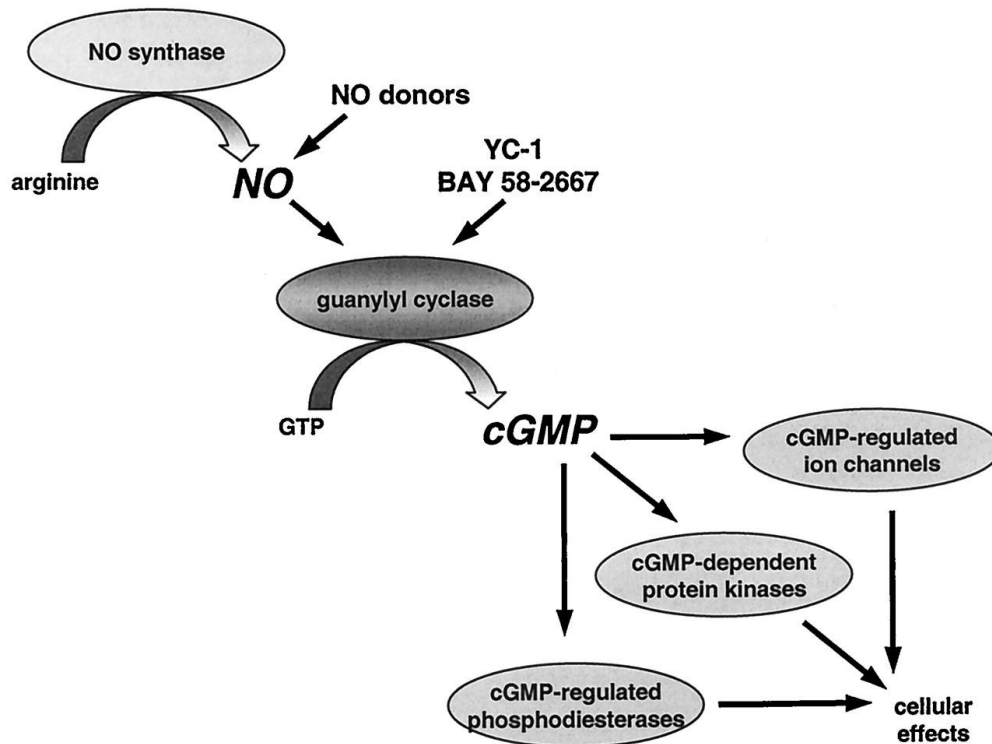
αδενυλικής κυκλάσης δεν επηρεάζει τη φωσφορυλίωση της ERK1/2 που προκαλείται από τις Ucn1 και Ucn2. Το μονοπάτι μεταγωγής σήματος μέσω των MAPKs ρυθμίζει τη συναπτική πλαστικότητα μέσω σταθεροποίησης της δομής των δενδριτικών ακάνθων και προωθώντας τις πρωτεΐνες σκαλωσιάς να δημιουργήσουν τοπικές δομές μορίων που μεταδίδουν το σήμα του υποδοχέα. Η μετακίνηση της φωσφορυλιωμένης ERK1/2 στον πυρήνα του κυττάρου ενεργοποιεί μεταγραφικούς παράγοντες που ελέγχουν την έκφραση γονιδίων. Η σύνδεση της β-αρρεστίνης-2 σε φωσφορυλιωμένους GPCRs που βρίσκονται δεσμευμένοι στη μεμβράνη διεγείρει τη δημιουργία μιας πρωτεϊνικής σκαλωσιάς, έτσι ώστε να επιστρατευτεί και να ενεργοποιηθεί η ERK1/2. Η ERK1/2, με τη σειρά της, ρυθμίζει ενδοκυττάριες διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένων της κυτταρικής κινητικότητας, της χημειοταξίας και της απόπτωσης. Επιπροσθέτως, οι CRHRs μπορούν να ενεργοποιήσουν τον καταρράκτη των MAPKs μέσω επιστράτευσης της β-αρρεστίνης-2. Τέλος, κατά την ενεργοποίηση του εξαρτώμενου από την PKA, καταρράκτη των MAPKs μέσω του CRHR1 στα AtT20, η ERK-2 επάγει τη φωσφορυλίωση του Nur77 και τη μεταγραφή του γονιδίου της POMC.(46)



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση του MAPK/ERK μονοπατιού.(49)

Οι CRH υποδοχείς μπορούν να μεταφέρουν κάποιο μήνυμα και μέσω του μονοπατιού Akt/πρωτεϊνική κινάση B (PKB). Η ενεργοποίηση των CRHR1 υποδοχέων σε εγκεφαλικούς κοκκιώδεις νευρώνες (cerebral granule neurons) νεογέννητων επίμυων, που τους έχει χορηγηθεί LY294002 (καταστολέα της PI-3 κινάσης), μέσω CRH, Ucn1 ή saunagine οδηγεί στη φωσφορυλίωση της σερίνης 4 στην κινάση 3β της συνθετάσης του γλυκογόνου (GSK-3β). Έρευνα έδειξε ότι η καταστολή της PKA, μέσω H89, σταματά τη φωσφορυλίωση της GSK-3β που προκαλείται από την ενεργοποίηση του CRHR1 υποδοχέα. Συνεπώς, στο προηγούμενο πειραματικό μοντέλο, η PKA είναι αυτή που φωσφορυλιώνει τη GSK-3β. Το μονοπάτι ERK-MAPK δεν φαίνεται να συμμετέχει στη φωσφορυλίωση της κινάσης 3β της συνθετάσης του γλυκογόνου. Πέραν αυτών, η Ucn1 διεγείρει τη φωσφορυλίωση της Akt σε καρδιομυοκύτταρα που εκφράζουν τον CRHR2. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω ενός μηχανισμού που κάνει χρήση της IP-3 κινάσης.(46)

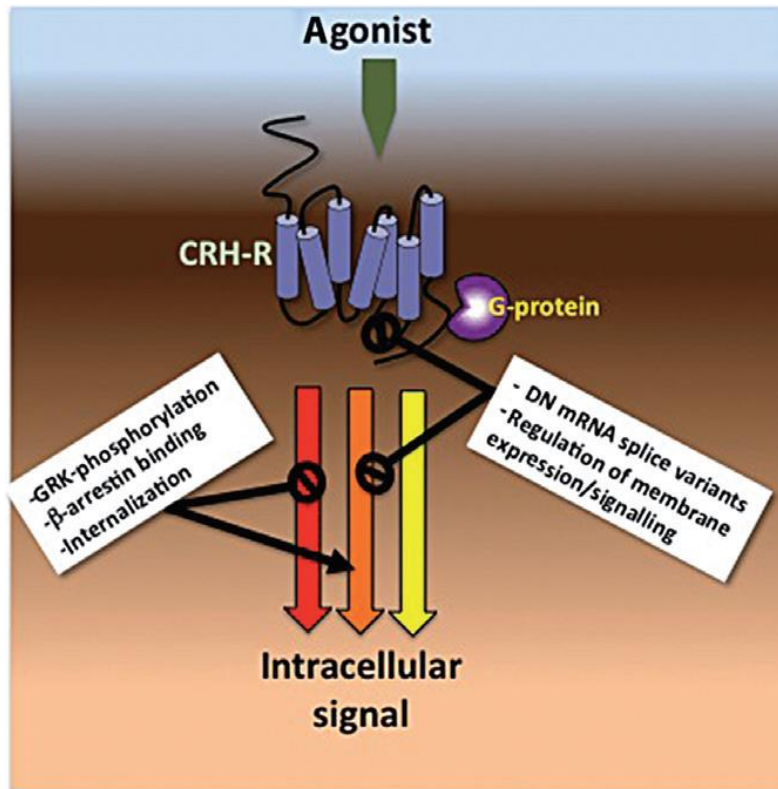
Ένα μονοπάτι που ενεργοποιείται από τη σύνδεση ενός αγωνιστή στον CRHR1 σε καλλιέργειες ανθρώπινων μωμμητρικών κυττάρων είναι αυτό της συνθάσης του οξειδίου του αζώτου (NOS) και της γουανυλικής κυκλάσης. Η ανταλαρμίνη, ένας ανταγωνιστής του υποδοχέα CRHR1, σταμάτησε την έκφραση της NOS και τη συσσώρευση του cGMP που προκαλεί η ενεργοποίηση του υποδοχέα. Η ανικανότητα των Ucn2 και Ucn3 να αυξήσουν την έκφραση της NOS και τη δραστηριότητα της γουανυλικής κυκλάσης στα μωμμητρικά κύτταρα δείχνει ότι μόνο ο CRHR1 υποδοχέας μετέχει στην ενεργοποίηση του μονοπατιού αυτού στο συγκεκριμένο κυτταρικό μοντέλο. Η σύνδεση της CRH με τον CRHR2 αυξάνει τα πρωτεϊνικά επίπεδα της iNOS σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας (HUVEC). Παρότι ο CRHR2 ενεργοποιεί το μονοπάτι NOS-GC στα HUVEC κύτταρα, στα H5V κύτταρα ενδοθλιόματος του ποντικίου την αύξηση της έκφρασης της NOS αναλαμβάνει ο CRHR1 και όχι ο CRHR2. Συνεπώς, το ποιος υποδοχέας θα ενεργοποιήσει το NOS-GC μονοπάτι εξαρτάται από τον τύπο κυττάρων που μελετάται.(46)



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση του μονοπατιού NOS-Γουανυλικής κυκλάσης(50)

Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι η έκθεση κυττάρων ανθρώπινου νευροβλαστώματος Y79 στον κυτταροτοξικό παράγοντα καμπτοθεσίνη (CT) αύξησε τη δραστηριότητα της κασπάσης 3, κάτι που η έκθεση σε CRH ανέστειλε. Η καταστολή της PKA με τον H89 αφαίρεσε τη ικανότητα της CRH να καταστείλει την αύξηση της κασπάσης 3 που οφείλεται στην CT.(46)

Η δραστηριότητα των CRHRs είναι ευαίσθητη σε ενδοκυττάριους μηχανισμούς που εξασθενούν άμεσα την απόδοση του μηνύματος και αποτρέπουν την υπερδιέγερση του κυττάρου. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι κοινί στους περισσότερους GPCRs και βασίζονται σε συγκεκριμένα κυτταρικά φαινόμενα. Ένα από τα φαινόμενα αυτά είναι η μετα-μεταφραστική τροποποίηση του υποδοχέα, η οποία συνήθως είναι φωσφορυλίωση από κάποια φωσφορική κινάση που ενεργοποιήθηκε από δεύτερο μηνυματοφόρο μόριο ή από κάποια κινάση GRK (G protein-coupled receptor kinase). Στη συνέχεια, ακολουθεί επιστράτευση συγκεκριμένων πρωτεϊνών «προσαρμοστών» (adaptor) όπως οι β-αρεστίνες, οι οποίες επάγουν την απευαισθητοποίηση του υποδοχέα και αποσύνδεση από τις G πρωτεΐνες. Μετά από αυτά, ακολουθεί η ενδοκυττάρωση του υποδοχέα.



Εικόνα 10: Μηχανισμοί ρύθμισης της έκφρασης του υποδοχέα CRHR και της μεταγωγής σήματος.(44)

Οι CRHR1 και CRHR2 θεωρείται ότι εμπεριέχουν στην αμινοξική αλληλουχία τους μια θέση για φωσφορυλίωση από την PKA, εντός του ενδοκυτταρικού βρόγχου 3. Παρόλα αυτά, η ομόλογη απευαισθητοποίηση του CRHR1 από κάποιον αγωνιστή φαίνεται να είναι μια διαδικασία ανεξάρτητη της PKA. Κατά την ενεργοποίηση, βέβαια, του CRHR1, η PKA φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα και η μετα-μεταφραστική αυτή τροποποίηση είναι καθοριστική για τη σύνδεσή του με τις Gπρωτεΐνες, αλλά, και την κατεύθυνση του μηνύματος. Οι αμινοξικές ακολουθίες των CRHRs εμπεριέχουν και πολλαπλές θέσεις για φωσφορυλίωση από την PKC. Τα ως τώρα δεδομένα, υποδεικνύουν ότι η φωσφορυλίωση από την PKC δεν συμμετέχει στην απευαισθητοποίηση του CRHR1. Συγκεκριμένα, έρευνες πάνω στη δομή του CRHR1 και τη διαδικασία δέσμευσής του με τις Gπρωτεΐνες δείχνουν ότι η σερίνη 408 στο καρβοξυτελικό άκρο του CRHR1 είναι υπεύθυνη για την αντίσταση στην απευαισθητοποίηση του υποδοχέα από τη PKC. Η αντικατάσταση του συγκεκριμένου αμινοξέος στον CRHR1 επιτρέπει στην PKC να εκκινήσει τη διαδικασία απευαισθητοποίησής του και την επακόλουθη ενδοκυττάρωση. Επιπροσθέτως, η δραστηριότητα των CRHRs ρυθμίζεται με ετερόλογο τρόπο από

την PKC. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η ετερόλογη απευαισθητοποίηση της αύξησης των επιπέδων του cAMP μετά από ενεργοποίηση από τη CRH σε ανθρώπινα κύτταρα νευροβλαστώματος Y79.

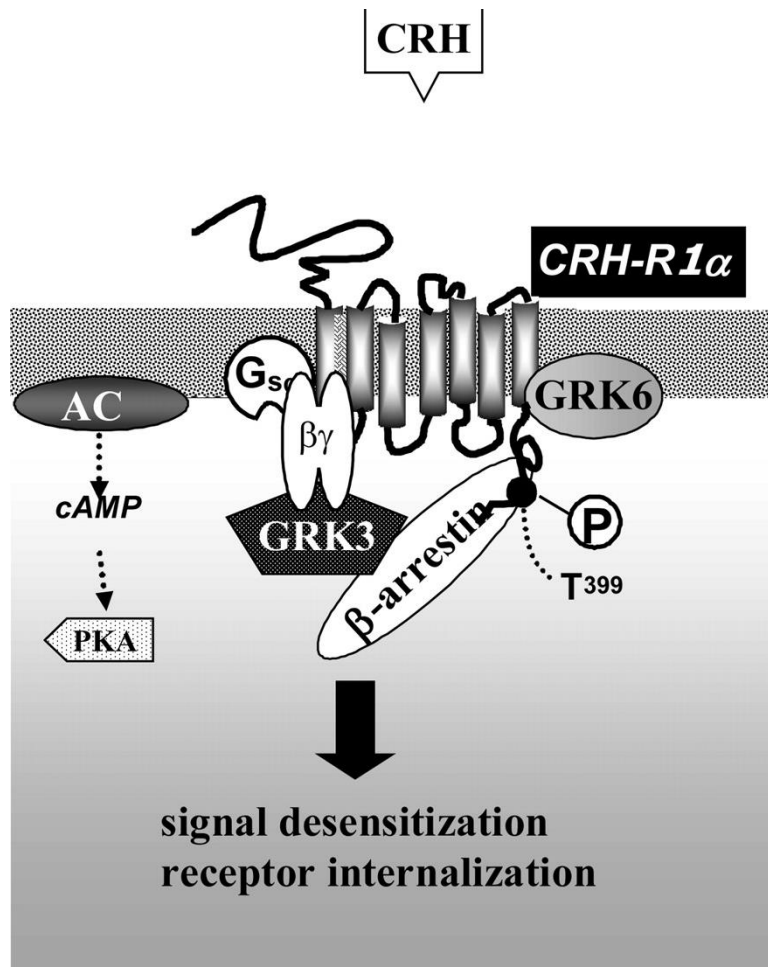
Η κύρια ομάδα φωσφορικών κινασών που ρυθμίζουν τη φωσφορυλίωση του CRHR1 στα θηλαστικά είναι η οικογένεια των GRKs. Στα κύτταρα του νευροβλαστώματος Y79, οι GRKs εμφανίζονται να συμμετέχουν στη φωσφορυλίωση του CRHR1 και την ομόλογη απευαισθητοποίησή του. Η πιο κοινή ισομορφή GRK στο κυτταρόπλασμα είναι η GRK3 και η ίδια απαιτεί τις υπομονάδες Gβγ για την επιστράτευσή της στην πλασματική μεμβράνη και την αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα. Εκτός αυτής, μια άλλη κινάση που συμμετέχει στη φωσφορυλίωση του υποδοχέα είναι η GRK6, η οποία υπό βασικές συνθήκες εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη. Αντίθετα με τη GRK3, όμως, η GRK6 αλληλεπιδρά με τον CRHR1 χωρίς την ανάγκη των Gβγ υπομονάδων, κάτι που, πιθανώς, οφείλεται στην εντόπιση της στην κυτταρική μεμβράνη. Πάντως, σε κύτταρα όπου απουσιάζει η GRK3, αυτή που έχει ρόλο στην ομόλογη απευαισθητοποίηση του CRHR1 είναι η GRK2. Στη δράση αυτή πιθανώς να συμμετέχει και το μονοπάτι cAMP/PKA μέσω της φωσφορυλίωσης της GRK2 και κατ' επέκταση της ενεργοποίησής της.

Η φωσφορυλίωση του υποδοχέα μέσω κάποιου αγωνιστή οδηγεί στην μετάθεση των β-αρρεστινών στην πλασματική μεμβράνη, όπου και αλληλεπιδρούν με τους φωσφορυλιωμένους GPCRs. Η δημιουργία του δυαδικού αυτού πρωτεϊνικού συμπλόκου αποτελεί το σήμα εκκίνησης δύο σημαντικών ενδοκυττάρων διαδικασιών, της αποδέσμευσης του υποδοχέα από τις G-πρωτεΐνες και της ενδοκυττάρωσής του. Όπως αναφέρθηκε, οι διαδικασίες αυτές σχετίζονται με την απευαισθητοποίηση και επαναφορά των κυτταρικών αποκρίσεων. Έρευνες δείχνουν ότι η ενεργοποίηση τόσο των CRHR1 όσο και των CRHR2 προκαλεί άμεση επιστράτευση των β-αρρεστινών και μετάθεσή τους στην πλασματική μεμβράνη, κάτι που καταλήγει στην αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα και την επακόλουθη απευαισθητοποίηση του σήματος. Οι μηχανισμοί που διέπουν τη σχέση αρρεστινών β και του υποδοχέα, φωσφορυλιωμένου ή μη, είναι αρκετά περίπλοκοι. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του CRHR1 είναι γενικώς αποδεκτό ότι η φωσφορυλίωση από κάποια GRK είναι απαραίτητη για τη βέλτιστη σύνδεση με τη β-αρρεστίνη. Μεταλλαγμένες μορφές του CRHR1, όμως, που παρουσιάζουν

αντίσταση στη φωσφορυλίωση από GRKs μπορούν επίσης να επιστράτευσουν β-αρρεστίνη. Επιπροσθέτως, φαίνεται ότι η επιστράτευση της β-αρρεστίνης στην πλασματική μεμβράνη είναι ανεξάρτητη της μετάδοσης σήματος του υποδοχέα, μια και ο CRHR1β, μια μορφή του υποδοχέα που είναι ανίκανη για μεταφορά σήματος, επίσης δύναται να επάγει την επιστράτευση της β-αρρεστίνης στην πλασματική μεμβράνη.

Οι έρευνες πάνω στην απευαισθητοποίηση του σήματος των CRHRs καταδεικνύουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους CRHR1 και CRHR2. Ο CRHR2 εμφανίζει πιο ταχύ ρυθμό απευαισθητοποίησης των αποκρίσεων με βάση την παραγωγή cAMP, μετά την ενεργοποίησή του από κάποιον αγωνιστή. Εκτός αυτού, μερικά μονοπάτια που ρυθμίζονται από τον CRHR1 δεν είναι επιδεκτικά στην απευαισθητοποίηση. Συγκεκριμένα η αλληλεπίδραση μεταξύ του υποδοχέα και της Gi πρωτεΐνης δεν επιδέχεται απευαισθητοποίηση είτε επειδή κάποια σημαντική θέση φωσφορυλίωσης δεν είναι διαθέσιμη είτε επειδή η φωσφορυλίωση και η δέσμευση της β-αρρεστίνης δεν παρεμβαίνουν στη σύνδεση του υποδοχέα με την Gi. Η αλληλεπίδραση της β-αρρεστίνης με τον CRHR1 συμμετέχει στην, ανεξάρτητη των G πρωτεϊνών, ενεργοποίηση των ERK1/2 και p38MAPK. Αυτό υποδεικνύει έναν σημαντικό ρόλο της β-αρρεστίνης στον τερματισμό κάποιων εκ των μηνυμάτων που εξαρτώνται από τις G πρωτεΐνες όπως το cAMP, ενώ διεγείρει κάποια άλλα, όπως αυτά μέσω των MAPKs, κατέχοντας έτσι τη δυνατότητα να ελέγχει την κατεύθυνση των ενδοκυττάρων γεγονότων του CRHR1. Με βάση τις μελέτες πάνω στη λειτουργία άλλων GPCRs, προτείνεται ότι η β-αρρεστίνη δεσμεύεται σε διάφορα μόρια του καταρράκτη των MAPKs και τα συναθροίζει σε ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο με τελικό στόχο τη διευκόλυνση της διάδοσης του σήματος. Η δυνατότητα αυτή της β-αρρεστίνης φαίνεται να είναι χαρακτηριστικό του CRHR1, μια και η ενεργοποίηση των ERK1/2 μέσω του CRHR2 εξαρτάται αποκλειστικά από τις G-πρωτεΐνες. Στο μοντέλο ενεργοποίησης μέσω της CRHR2, οι ERK1/2 ρυθμίζουν με ακρίβεια τη δράση της β-αρρεστίνης 1, ελέγχοντας τη μετάβαση της στην πλασματική μεμβράνη. Ο έλεγχος αυτός επιτυγχάνεται μέσω φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης. Η προαναφερθείσα διαδικασία έχει ως τελικό αποτέλεσμα τη ρύθμιση της απευαισθητοποίησης και ενδοκυττάρωσης του CRHR2.

Η ενδοκυττάρωση είναι απαραίτητη για την εξασθένιση τη κυτταρικής απόκρισης στη CRH και τους αγωνιστές της. Η σύνδεση της β-αρεστίνης σε κάποιο υποδοχέα της CRH αποτελεί εναρκτήριο γεγονός για την ενδοκυττάρωση του. Η τύχη του συμπλόκου β-αρεστίνης και CRHR1 είναι διφορούμενη, μια και υπό συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες το σύμπλοκο είναι σταθερής μορφής, ενδοκυτταρώνεται και εισέρχεται σε κάποιο ενδοκυτταρικό κυστίδιο, ενώ σε διαφορετικές συνθήκες ο υποδοχέας αποσπάται από τη β-αρεστίνη περί την πλασματική μεμβράνη και στη συνέχεια ενδοκυτταρώνεται, με τη β-αρεστίνη να παραμένει στην πλασματική μεμβράνη. Η ύπαρξη ξεχωριστών μονοπατιών που οδηγούν στην ενδοκυττάρωση του CRHR1 υποστηρίζεται από δεδομένα που δείχνουν ότι ο τρόπος με τον οποίο επιτυγχάνεται η διαδικασία εξαρτάται από τον συνδέτη του υποδοχέα.(44) Επιπλέον, άλλες έρευνες υποστηρίζουν ότι η ενδοκυττάρωση του CRHR1 είναι ανεξάρτητη του βαθμού επιστράτευσης της β-αρεστίνης και του βαθμού φωσφορυλίωσης του υποδοχέα. Τα δεδομένα αυτά οδηγούν στη θεωρία ότι η διεργασία της ενεργοποίησης και της σηματοδότησης του υποδοχέα και η διεργασία ενδοκυττάρωσής του δεν συγγενεύουν σε μεγάλο βαθμό. Πιθανώς, ο CRHR1 να αποκτά ξεχωριστές ενεργές διαμορφώσεις υπό διαφορετικές συνθήκες, οι οποίες είναι εξειδικευμένες ως προς συγκεκριμένες λειτουργίες όπως η ενδοκυττάρωση. Στο CRHR2, η ενεργοποίηση του υποδοχέα επάγει την παροδική επιστράτευση της β-αρεστίνης 1, της β-αρεστίνης 2 και της κλαθρίνης στην πλασματική μεμβράνη. Στη συνέχεια, ακολουθεί η ταχεία ενδοκυττάρωση του υποδοχέα, μέσω ενός μηχανισμού που δεν περιλαμβάνει κάποια αλληλεπίδραση με τη β-αρεστίνη μέσα στο κύτταρο. Οι παραπάνω ενδοκυττάριοι μηχανισμοί που ρυθμίζουν την ενδοκυττάρωση των υποδοχέων της CRH κατέχουν μείζονα ρόλο στην προσαρμογή των κυττάρων στην ορμόνη. Πειράματα σε επίμυες δείχνουν ότι η σύνδεση του CRHR1 με τη β-αρεστίνη, ως απόκριση στο στρες, παρατηρείται μόνο στα αρσενικά ζώα.



Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση του πιθανού μηχανισμού ομόλογης απευαισθητοποίησης του CRHR1α σε κύτταρα της μορφής HEK 293. Η θρεονίνη 399 στο καρβοξυτελικό άκρο του CRHR1α φαίνεται να είναι σημαντική στη λειτουργία των GRKs.(51)

Ο άνθρωπος αλλά και άλλα ζώα παρουσιάζουν έναν μεγάλο αριθμό παραλλαγών mRNAs των CRHRs. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω εναλλακτικών ματισμάτων του pre-mRNA, ένας εκ των κύριων μηχανισμών ρύθμισης της βιολογικής δράσης των GPCRs. Μια γνωστή παραλλαγή του CRHR2 είναι ο διαλυτός CRHR2α που προκύπτει από τη διαγραφή ενός εξωνίου. Υπερέκφραση του CRHR2α υποδεικνύει ότι μπορεί να ελέγχει τις βιολογικές δράσεις της CRH και των συγγενικών της πεπτιδίων, πιθανώς δρώντας ως εξωκυτταρική πρωτεΐνη δέσμησης του συνδέτη. Συγκεκριμένα, η παραλλαγή αυτή του CRHR2 έχει τη δυνατότητα καταστολής της κυτταρικής απόκρισης στη CRH και στην Ucn1. Διαλυτές παραλλαγές

έχει και ο CRHR1, τις ισομορφές e και h. Αυτές κατανέμονται διάχυτα στο κυτταρόπλασμα ή βρίσκονται τοπικά στο ενδοπλασματικό δίκτυο, καθώς και στον εξωκυττάριο χώρο. Η επίδραση των ισομορφών πάνω στον υποδοχέα CRHR1 αγρίου τύπου (CRHR1α) είναι διπλή και βασίζεται στην εντόπισή τους. Όταν εκκρίνονται μπορούν και καταστέλλουν τη δράση της CRH, ενώ η ενδοκυτταρική τους παρουσία μπορεί να ενισχύσει το σήμα που προκαλείται από τη σύνδεση ενός αγωνιστή με το CRHR1α. Γενικά, υπάρχουν διάφοροι βιολογικοί μηχανισμοί που ρυθμίζουν δυναμικά το μάτισμα του mRNA των CRHRs. Άλλες παραλλαγές των CRHRs εμφανίζουν ρόλο επικρατούντος αρνητικού (dominant negative) ρυθμιστή. Με τον όρο dominant negative μετάλλαξη αναφερόμαστε σε μια μετάλλαξη που οδηγεί στη δημιουργία μιας παραλλαγής της πρωτεΐνης που όχι μόνο έχει χάσει τη φυσιολογική της λειτουργία, αλλά έχει επίσης την ικανότητα να καταστέλλει τη λειτουργία της ταυτόχρονα εκφραζόμενης πρωτεΐνης αγρίου τύπου.(52) Μια τέτοια παραλλαγή του CRHR1 είναι ο CRHR1d, η δράση του οποίου γίνεται μέσω της παρεμβολής της εντόπισης του υποδοχέα αγρίου τύπου στην πλασματική μεμβράνη ή μέσω καταστολής της ενεργοποίησης του υποδοχέα από τους αντίστοιχους αγωνιστές.

Ρύθμιση των επιπέδων mRNA και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των CRHRs

Στις περισσότερες πειραματικές συνθήκες, η αποκριτικότητα της υπόφυσης και ο αριθμός των υποδοχέων στο πρόσθιο τμήμα της δεν εμφανίζουν υψηλή συσχέτιση.(53) Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ότι μετά την επινεφριδεκτομή υπάρχει μια μειορρύθμιση και απευαισθητοποίηση των CRHRs της υπόφυσης, κάτι που οδηγεί στη μείωση του αριθμού των υποδοχέων και στη μείωση της αδενυλικής κυκλάσης που διεγείρει η CRH. Αυτά τα δεδομένα έρχονται σε αντίθεση με την αύξηση του mRNA της POMC και της ACTH στο πλάσμα που παρατηρούνται στις ίδιες συνθήκες. Η μεγάλη απώλεια των CRHRs οφείλεται στην έκθεση της υπόφυσης σε υψηλά επίπεδα CRH και AVP. Επιπροσθέτως, η αυξημένη απόκριση της ACTH σε κάποιο νέο, για τον οργανισμό, στρέσορα στα περισσότερα μοντέλα χρόνιου στρες συνδέεται, συνήθως, με τη μειορρύθμιση του CRHR και την απευαισθητοποίησή του.

Πάντως, η απευαισθητοποίηση της απόκρισης της ACTH σε επαναλαμβανόμενα ερεθίσματα δεν φαίνεται να οφείλεται στη μείωση των CRHRs της υπόφυσης, μια και ίδια ή και μεγαλύτερη απώλεια υποδοχέων παρατηρείται σε άλλα μοντέλα χρόνιου στρες, όπου τα βασικά επίπεδα της ACTH μένουν αμετάβλητα μετά από επαναλαμβανόμενο στρες. Συνεπώς, οι έρευνες οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των υποδοχέων της CRH δεν είναι κύριος παράγοντας στην απόκριση των κορτικοτρόφων και οι πλήρεις αποκρίσεις της ACTH μπορούν να επιτευχθούν με μερικό αριθμό υποδοχέων. Παρόλα αυτά, η φαρμακολογική ή χειρουργική απαλοιφή της CRH, η εξάλειψη της CRH ή τα knockout ποντίκια ως προς τη CRH ή τον CRHR1 εξασθενούν σε μεγάλο βαθμό την απόκριση της ACTH. Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη CRH και ενός ελάχιστου αριθμού CRHR1s απαιτούνται για την απόκριση της υπόφυση στους περισσότερους στρέσορες. Αλλαγές στον HPA άξονα προκαλούν μεταβολές στα επίπεδα mRNA του CRHR1 στην υπόφυση. Δεν υπάρχει, όμως, κάποια συσχέτιση ανάμεσα στο ποσοστό σύνδεσης της CRH και την ποσότητα mRNA του CRHR, κάτι που υποδηλώνει ότι ο αριθμός των ενεργών υποδοχέων CRH στην υπόφυση δεν εξαρτάται από τα επίπεδα του αντίστοιχου mRNA. Το οξύ στρες προκαλεί διφασικές αλλαγές στο mRNA του υποδοχέα στην υπόφυση, με μείωση των επιπέδων 2 ώρες μετά την έκθεση στο στρεσογόνο παράγοντα και επιστροφή στα βασικά επίπεδά του και μια αύξηση που αρχίζει να παρατηρείται 4 ώρες μετά. Σε κάποια μοντέλα οξέος στρες, όπως η ακινητοποίηση, η αύξηση του mRNA του υποδοχέα συνοδεύεται από αύξηση στη δέσμευση της CRH. Σε άλλα μοντέλα, όπως η έγχυση ενός υπερτονικού διαλύματος, παρατηρείται μείωση του CRHR mRNA, ενώ η δέσμευση της ορμόνης δεν αυξάνεται. Ο μηχανισμός που ελέγχει τα επίπεδα του CRHR1 της υπόφυσης κατά τη διάρκεια του στρες περιλαμβάνει, πιθανώς, την αυξημένη έκθεση των κορτικοτρόφων της υπόφυσης σε γλυκοκορτικοειδή, στη CRH και στην AVP.

Η συστηματική έγχυση CRH μειώνει τα επίπεδα mRNA του υποδοχέα CRHR υποδοχέα στην υπόφυση, μετά από δύο ώρες. Τέσσερις ώρες αργότερα, όμως, οι συγκεντρώσεις του mRNA επιστρέφουν στα βασικά επίπεδα, παρά την παραμονή της υψηλής ποσότητας CRH στην κυκλοφορία. Αντιθέτως, σε συνθήκες *in vitro*, η έκθεση κυττάρων της υπόφυσης σε CRH οδηγεί στη μείωση των επιπέδων του CRHR mRNA, τα οποία και μείωση που διατηρούνται. Αυτή η ασυμφωνία που

παρατηρείται στη δράση της CRH πιθανώς οφείλεται σε διαφορετικά πρότυπα έκθεσης του κυττάρου στην ορμόνη ή στην απουσία αλληλεπίδρασής της με άλλους κυτταρικούς παράγοντες που παρουσιάζονται είναι παρόντες *in vivo*, όπως τα γλυκοκορτικοειδή. Χαρακτηριστικό είναι ότι σε επίμυες που έχει εφαρμοστεί επινεφριδεκτομή και υπάρχει απουσία γλυκοκορτικοειδών, η έγχυση CRH προκαλεί μειορρύθμιση μεγάλης διάρκειας του CRHR1 mRNA. (53) Πειράματα στα οποία γίνεται ταυτόχρονη ενδοπεριτοναϊκή έγχυση CRH και AVP καθώς και μελέτες σε επίμυες Brattleboro που παρουσιάζουν έλλειψη AVP υποδεικνύουν ότι η AVP συνεργεί στην ικανότητα της CRH να οδηγεί σε μειορρύθμιση του CRHR. Τα δεδομένα αυτά προτείνουν ότι η αυξημένη αναλογία AVP προς CRH και η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων είναι υπεύθυνες για τη μειορρύθμιση του CRHR1 μετά από μια επινεφριδεκτομή ή μετά από χρόνια στρες. Σε αντίθεση με τη διευκόλυνση της μειορρύθμισης του υποδοχέα της CRH που προκαλεί η AVP, το πεπτιδίο μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση των επιπέδων mRNA του CRHR *in vivo*, όταν η χορήγηση γίνεται εφάπαξ ή με επαναλαμβανόμενες εγχύσεων για 14 μέρες. Παρόλα αυτά, σε *in vitro* συνθήκες, όπου καλλιέργεια κυττάρων της υπόφυσης επωάζονται με AVP, παρουσιάζεται μειορρύθμιση των επιπέδων mRNA του CRHR και ενισχύεται η ικανότητα της CRH για μειορρύθμιση του υποδοχέα. Αυτές οι διαφορές στην επιρροή της AVP *in vivo* και *in vitro* οδηγούν στη θεωρία ότι η δράση του πεπτιδίου εξαρτάται από την αλληλεπίδραση της μετάδοσης του σήματος του υποδοχέα της AVP με άλλους παράγοντες.(53)

Τα γλυκοκορτικοειδή προκαλούν μεγάλης διάρκειας μείωση στη δέσμευση της CRH τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Η μείωση, όμως, του mRNA του CRHR1 είναι παροδική, κάτι που υποδεικνύει ότι τα γλυκοκορτικοειδή καταστέλλουν τη σύνθεση CRHR1 σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο. Τα επίπεδα mRNA του CRHR1 στην υπόφυση δεν καταστέλλονται με τονικό τρόπο από τα γλυκοκορτικοειδή, μια και μακροπρόθεσμα η επινεφριδεκτομή δεν τα επηρεάζει. Πάραυτα, τα επίπεδα του mRNA του CRHR1 μειώνονται μετά από χορήγηση γλυκοκορτικοειδών και επανέρχονται σε φυσιολογικά πλαίσια μόνο όταν τα γλυκοκορτικοειδή της κυκλοφορίας πέσουν κάτω από τα επίπεδα που χαρακτηρίζουν το στρες. Αυτό οδηγεί στην υπόθεση ότι η αύξηση των γλυκοκορτικοειδών συμμετέχει στην πρωταρχική μείωση του mRNA του CRHR1 που παρατηρείται στην υπόφυση κατά τη

διάρκεια του στρες. Από την άλλη πλευρά, το στρες και η έγχυση CRH προκαλούν μεγάλης διάρκειας μείωση στο mRNA του CRHR1 επίμυων που έχουν υποστεί επινεφριδεκτομή, κάτι που πιθανώς οφείλεται στο ότι τα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών που χαρακτηρίζουν μια κατάσταση ηρεμίας σε φυσιολογικούς αρουραίους είναι απαραίτητα για την επαναφορά των επιπέδων mRNA του προαναφερθέντα υποδοχέα σε φυσιολογικές τιμές. Έρευνες κατά τις οποίες η CRH και η κορτικοστερόνη χορηγούνται ταυτόχρονα στο πειραματόζωο δείχνουν ότι οι συγκεντρώσεις του mRNA του CRHR1 επανέρχονται πλήρως σε φυσιολογικά επίπεδα 4 ώρες μετά τη χορήγηση. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η αλληλεπίδραση των δύο αυτών ρυθμιστών του στρες εξουδετερώνει την ανασταλτική ικανότητα που παρουσιάζει ο καθένας μόνος και μειώνει τη διάρκεια της φάσης καταστολής. Καθώς η έγχυση CRH σε νεογνά επίμυων αυξάνει τα γλυκοκορτικοειδή της κυκλοφορίας, η συνδυαστική δράση των δύο ρυθμιστών μπορεί να αιτιολογήσει την άμεση επαναφορά των επιπέδων του mRNA του CRHR1. Επίσης είναι πιθανό και η καταστολή μέσω ανατροφοδότησης της έκκρισης CRH στη μέση προεσοχή, μετά την έγχυση γλυκοκορτικοειδών, να συμμετέχει στην επαυξημένη διάρκεια της καταστολής του mRNA του CRHR1. Γενικά, τα επίπεδα του mRNA του CRHR1 υποδοχέα στην υπόφυση είναι υπό την επιρροή των γλυκοκορτικοειδών, της AVP και της CRH. Βέβαια, όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως, τα επίπεδα του mRNA του CRHR1 δεν αντικατοπτρίζουν το ποσοστό δέσμευσης της CRH στην υπόφυση και οι μεταφραστικές και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις έχουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των επιπέδων έκφρασης του υποδοχέα της CRH στην υπόφυση.

Οι αλλαγές που παρατηρούνται στο mRNA του CRHR της υπόφυσης κατά το επαναλαμβανόμενο στρες χαρακτηρίζονται ως δυναμικές, με τη μειορρύθμιση που προκαλείται να ακολουθείται από αυξήσεις έπειτα από κάθε στρεσογόνο επεισόδιο. Αυτό υποδεικνύει ότι η ενεργοποίηση της μεταγραφής του γονιδίου του CRHR1 είναι μείζονος σημασίας για τη διατήρηση των απαιτούμενων επιπέδων του υποδοχέα της CRH. Βέβαια, όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ασυμφωνία μεταξύ των επιπέδων του mRNA του CRHR1 και του ποσοστού δέσμευσης της CRH κατά τη διάρκεια αλλαγών στη δράση του HPA άξονα δείχνει ότι τα μετα-μεταφραστικά γεγονότα έχουν σημαντική επίδραση στα επίπεδα του CRHR υποδοχέα στην

υπόφυση. Μάλιστα, τα ποσοστά δέσμευσης της CRH δεν συμβαδίζουν με την περιεκτικότητα που παρουσιάζουν οι μεμβράνες της υπόφυσης σε CRHR1 πρωτεΐνη(53) Ενδιαφέρουσες πειραματικές συνθήκες με αντίθετες επιδράσεις στη λειτουργία του HPA άξονα είναι η επινεφριδεκτομή και η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών. Έξι ημέρες μετά από επινεφριδεκτομή, οι επίμυες παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα της CRHR1 πρωτεΐνης, παρά τη χαμηλή δέσμευση της CRH. Η δράση αυτή της επινεφριδεκτομής μπορεί να παρεμποδιστεί με χορήγηση γλυκοκορτικοειδών. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ως η μείωση της δέσμευσης που παρατηρείται στην επινεφριδεκτομή δεν οφείλεται στη μείωση της σύνθεσης του υποδοχέα, αλλά στην ομόλογη απευαισθητοποίηση και ενδοκυττάρωση. Από την άλλη πλευρά, τα γλυκοκορτικοειδή μειώνουν τη δέσμευση, πιθανώς, μέσω της καταστολής της μετάφρασης του mRNA του CRHR1 ή/και μέσω της αποσύνθεσης του υποδοχέα.

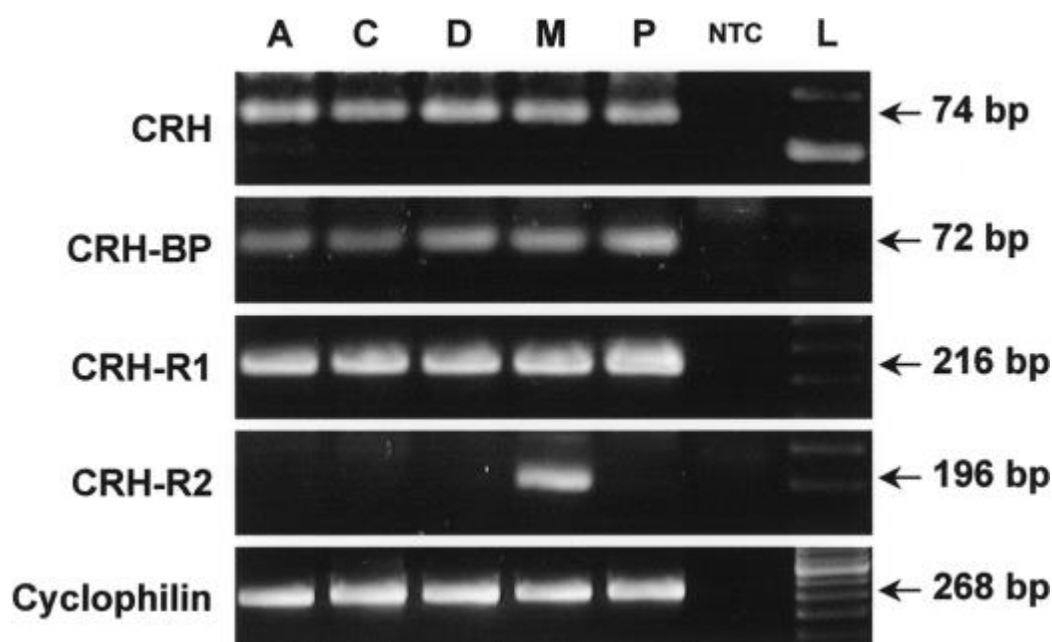
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η μετάφραση του mRNA του CRHR1 είναι ένα κύριο στάδιο ρύθμισης της σύνθεσης του υποδοχέα όταν η λειτουργία του HPA άξονα υπόκειται σε αλλαγές. Οι μηχανισμοί με τους οποίους ρυθμίζεται η μετάφραση του CRHR1 δεν είναι πλήρως γνωστοί. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα δομικά χαρακτηριστικά της 5' περιοχής του mRNA που δεν υπόκειται σε μετάφραση (5'-UTR) έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της μετάφρασης και στη συγκεκριμένη περίπτωση τη μετάφραση του mRNA του CRHR1. Εκτός αυτού, είναι γνωστό ότι σε πολλά γονίδια η δέσμευση πρωτεϊνών στην 5'-UTR περιοχή του mRNA που παράγουν μπορεί να επηρεάσει τη μετάφρασή τους.(53) Άλλες μελέτες δείχνουν ότι οι κυτοσολικές πρωτεΐνες της υπόφυσης προσδένονται στην 5'-UTR του mRNA του CRHR1, όταν η μεταγραφή του έχει γίνει *in vitro*. Επιπροσθέτως, κυτοσολικές πρωτεΐνες από την υπόφυση επίμυων στους οποίους έχει γίνει επινεφριδεκτομή παρουσιάζουν αυξημένη δέσμευση στο mRNA του CRHR1, κάτι που δεν ισχύει για τη δέσμευσή τους με το mRNA του υποδοχέα AT₁ της αγγειοτενσίνης. Η ικανότητα που έχουν οι αλλαγές στη λειτουργία του HPA άξονα να ρυθμίζουν τη σύνδεση πρωτεϊνικών συμπλόκων στην 5'UTR του mRNA του CRHR1 υποδεικνύει ότι στη ρύθμιση της μετάφρασης του mRNA του CRHR1 συμμετέχουν πρωτεΐνες που δεσμεύονται στο RNA.

Ένας πρόσθετος μηχανισμός που επηρεάζει τη μετάφραση περιλαμβάνει την παρουσία μίνι-σιστρονίων (minicistron) ή ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης στην 5'-UTR περιοχή (upstream) των mRNAs. Η ανάλυση μέσω υπολογιστή της 5'-UTR περιοχής του mRNA του CRHR1 αποκάλυψε την ύπαρξη ενός μικρού ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης (ORF) που κωδικοποιεί, υποθετικά, ένα πεπτίδιο μεγέθους 10 αμινοξέων. Η επιρροή αυτής της ανοδικού (upstream) ORF στη μετάφραση του CRHR1 μελετήθηκε σε τεχνητές δομές που περιλάμβαναν την 5'-UTR περιοχή του γονιδίου του υποδοχέα και τη κύρια ORF της λουσιφεράσης ή του CRHR1. Η 5'-UTR του CRHR1 μπορούσε να περιλαμβάνει ή όχι μια μετάλλαξη που μετέτρεπε το ATG σε ATA στο ανοδικό ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης. Στην περίπτωση της λουσιφεράσης, η παρουσία της μεταλλαγμένης δομής οδηγούσε σε αύξηση της δραστηριότητας της λουσιφεράσης καθώς και της ποσότητας της αντίστοιχης πρωτεΐνης, σε σχέση με τη φυσιολογική 5'-UTR. Στη δε περίπτωση του CRHR1, η παρουσία της μεταλλαγμένης δομής προκαλούσε αυξημένη δέσμευση CRH καθώς και αυξημένη παραγωγή cAMP που συνδέεται με την ενεργοποίηση του υποδοχέα, χωρίς όμως αύξηση των επιπέδων του mRNA του CRHR1. Επίσης, η επιμόλυνση κυττάρων με τη μετάλλαξη του 5' ORF αύξησε τα επίπεδα της CRHR1 πρωτεΐνης, κάτι που υποδεικνύει ότι αυτό το 5' ORF έχει τη δυνατότητα της καταστολής της μετάφρασης του υποδοχέα. Ο μηχανισμός με τον οποίο λειτουργούν τα παραπάνω, πιθανώς, περιλαμβάνει τη μετάφραση του 5' πεπτιδίου(53)

Πρώιμη ανάπτυξη του εγκεφάλου και CRHRs

Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, η CRH και τα πεπτίδια που ανήκουν στην ίδια οικογένεια παρουσιάζουν υψηλή έκφραση στον πλακούντα και σε ενδομήτριους ιστούς. Τα μόρια αυτά δρουν μέσω της σύνδεσής τους με τους CRHRs.(54) Τέτοιας μορφής υποδοχείς φαίνεται να εκφράζονται σε μακροφάγα και επιθηλιακά κύτταρα στον πλακούντα, στο μυομήτριο, στο φθαρτό υμένα και στις εμβρυϊκές μεμβράνες. Οι ιστοί αυτοί λήφθηκαν από γυναίκες που βρίσκονταν στην 38^η με 40^η εβδομάδα κύησης.(55) Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνει τη σημασία της CRH και των υποδοχέων

της στη φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου και τη διαδικασία της γέννας.



Εικόνα 12: Έκφραση των mRNA των CRH, CRH-BP, CRHR1, CRHR2 στο άμνιο (A), στο χόριον (C), στο φθαρτό (D), στο μυομήτριο (M) και τον πλακούντα (P) σε γυναίκες που βρίσκονταν στην 38^η με 40^η εβδομάδα κύησης. Όπου NTC το αρνητικό κοντρόλ και Cyclophilin το θετικό κοντρόλ.(55)

Η φυσιολογική κατανομή των υποδοχέων της CRH έχει μελετηθεί τόσο σε πειραματόζωα όσο και στον άνθρωπο. Στους επίμυες και στον άνθρωπο παρατηρείται πώς ο CRHR1 υποδοχέας είναι ο υποδοχέας με τη μεγαλύτερη κατανομή στον εγκέφαλο, ενώ ο CRHR2 εκφράζεται, κυρίως, στους περιφερικούς ιστούς. Βέβαια, στον άνθρωπο, και οι δύο CRHRs εκφράζονται στο φλοιό, στην υπόφυση, στην αμυγδαλή, στον ιππόκαμπο, στο θάλαμο και στη παρεγκεφαλίδα, υποδεικνύοντας μια πιο ευρεία κατανομή και μεγαλύτερη έκφραση του CRHR2 σε σχέση με τους επίμυες. Σε αντίθεση με τη υπόφυση των επίμυων που δεν εκφράζει CRHR2, η ανθρώπινη υπόφυση εκφράζει και τους δύο τύπους υποδοχέων.(56)

Αυτή η εικόνα κατανομής των υποδοχέων μπορεί να αλλάξει μετά από έκθεση σε στρες, ακόμα κι αν η έκθεση αυτή γίνεται σε προγεννητικό επίπεδο. Σε επίμυες, παρατηρείται ότι η εφαρμογή στρες σε μητέρες μεταξύ της 13^{ης} και 21^{ης} μέρας κύησης οδηγεί στην εμφάνιση αλλαγών της έκφρασης της CRH, των υποδοχέων της και της CRH-BP στην αμυγδαλή και στον PVN των απογόνων τους. Το προαναφερθέν χρονικό διάστημα που εφαρμόζεται το στρες αποτελεί κρίσιμη

περίοδο για την ανάπτυξη του μεταιχμιακού συστήματος και του HPA άξονα. Οι αλλαγές αυτές οδηγούν στην εμφάνιση αγχογόνου συμπεριφοράς και στα δύο φύλα, με την επίδραση στο κάθε φύλο, όμως, να είναι διαφορετική.(57) Το προγεννητικό στρες στα θηλυκά αυξάνει την έκφραση της CRH στον PVN, η οποία σε μελέτες συνδέεται με αυξημένη ενεργοποίηση του HPA άξονα. Τα θηλυκά που έχουν υποστεί προγεννητικό στρες (PS, prenatal stress) έχουν μικρότερο αριθμό CRHR2s στον PVN. Παρότι ο ρόλος του υποδοχέα CRHR2 στην αγχώδη συμπεριφορά δεν είναι καθαρός, μελέτες δείχνουν ότι η διέγερσή του μειώνει τη δράση του CRHR1 στον PVN ως απόκριση στο στρες. Οι αγχώδεις θηλυκοί PS επίμυες έχουν ταυτόχρονα αυξημένα επίπεδα mRNA της CRH και μειωμένα επίπεδα CRHR2 mRNA στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής. Οι αρσενικοί PS επίμυες δεν εμφανίζουν κάποια διαφορά στα επίπεδα mRNA της CRH, αλλά έχουν μειωμένα επίπεδα CRH-BP mRNA και CRHR2 mRNA στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής. Η μείωση των CRHR2s σε συνδυασμό με την αγχώδη συμπεριφορά που παρουσιάζουν οι PS επίμυες υποστηρίζει τη θεωρία ότι η διέγερση των συγκεκριμένων υποδοχέων στην αμυγδαλή έχει αγχολυτική επίδραση.(57)

Οι αλλαγές στην έκφραση της CRH, των υποδοχέων της και της CRH-BP στον PVN και την αμυγδαλή PS αρουραίων μπορεί να προκύπτει από αλλαγές στον προγραμματισμό του μεταιχμιακού συστήματος ως συνέπεια των μητρικών γλυκοκορτικοειδών κατά τη διάρκεια της κύησης. Η επινεφριδεκτομή στις μητέρες πριν την έναρξη κάποιου πειραματικού πρωτοκόλλου εφαρμογής στρες εμποδίζει την υψηλή εμφάνιση άγχους και στα δύο φύλα στους απογόνους, ενώ εμποδίζει και τις αλλαγές στην έκφραση της CRH στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής και στον PVN των θηλυκών.(57)

Οι διαφορές στην έκφραση των CRHRs στην αμυγδαλή ανάμεσα στα δύο φύλα εξαρτώνται από την υποπεριοχή που ερευνάται.(58) Σε άλλη έρευνα, στους αρσενικούς PS επίμυες, τα επίπεδα του CRHR1 mRNA είναι υψηλότερα στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής και στον βασικό-έξω πυρήνα της αμυγδαλής (BLA), ενώ στους θηλυκούς PS διαφορά παρατηρείται μόνο στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, όπου παρουσιάζεται μεγαλύτερη έκφραση του CRHR1 mRNA. Όσον αφορά το CRHR2 mRNA, η έκφρασή του εμφανίστηκε μειωμένη στο βασικό έσω πυρήνα της αμυγδαλής (BMA) αρσενικών PS αρουραίων και αυξημένη στους

θηλυκούς.(58) Οι αναλογίες CRHR1:CRHR2 των mRNA επιπέδων mRNA CRHR1:CRHR2 εντός των υποπεριοχών της αμυγδαλής δεν είχαν μεγάλη διαφορά στους θηλυκούς και στους αρσενικούς επίμυες, σε σχέση με τα κοντρόλ ζώα ελέγχου. Αντιθέτως, η σχετική έκφραση του CRHR1 προς το CRHR2 μεταξύ υποπεριοχών της αμυγδαλής ήταν πολύ μεγαλύτερη στους αρσενικούς PS επίμυες σε σχέση με τα κοντρόλ ζώα ελέγχου, κάτι που δεν εμφανίστηκε στους θηλυκούς. Αυτό οφείλεται στην αυξημένη έκφραση του CRHR1 στους CeA και BLA πυρήνες των αρσενικών, με ταυτόχρονη μειωμένη έκφραση CRHR2 στον BMA τους.(58)

Η CRH έχει τη δυνατότητα να δεσμεύεται σε εγκεφαλικές περιοχές από την 15^η μέρα κύησης. Η δέσμευση αυτή φαίνεται να γίνεται σε CRHR1 υποδοχείς, μιας και η εμφάνιση του CRHR2 εμφανίζεται αργότερα.(45, 59) Η δέσμευση στον CRHR1 αυξάνεται κατά τη διάρκεια της κύησης, με το μέγιστο ποσοστό της να εντοπίζεται στο ραβδωτό, συγκεκριμένα στην κεφαλή του κερκοφόρου πυρήνα, 6 ημέρες πριν τη γέννηση. Μετά τη γέννηση, υπό φυσιολογικές συνθήκες, η κατανομή του mRNA του CRHR1, επίσης, ακολουθεί συγκεκριμένα μοτίβα.(60) Στον υπόκαμφο, και συγκεκριμένα στις περιοχές CA1, CA2 και CA3, το CRHR1 mRNA έφτασε τις μέγιστες τιμές του 6 ημέρες μετά τη γέννηση. Στην αμυγδαλή, τα επίπεδα του CRHR1 mRNA ήταν μέγιστα την ένατη ημέρα μετά τη γέννηση, με τιμές 180% των αντίστοιχων τιμών ενηλίκων. Πρόσθετα, στο νεοφλοιό, αρχίζοντας από τις υψηλές τιμές CRHR1 mRNA στη δεύτερη ημέρα μετά τη γέννηση, παρατηρείται μια σταθερή μείωση των επιπέδων τους. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι ο έλεγχος της σύνθεσης του CRHR1 υποδοχέα είναι εξειδικευμένος και εξαρτάται από την περιοχή που μελετάται και την ηλικία.

Ο ρόλος της CRH με βάση την ηλικία του ατόμου, πιθανώς, οφείλεται στα μοτίβα έκφρασης των υποδοχέων της. Για παράδειγμα τα αυξημένα επίπεδα CRHR1 mRNA στους νεογέννητους επίμυες σε σχέση με τους ενήλικους, μπορεί να αποτελούν ένα από τα αίτια για την υψηλή διεγερτική ικανότητα της CRH στα νεογέννητα.(60) Η κατανομή του CRHR2 mRNA στον υποθάλαμο και τις περιοχές του μεταϊχμιακού συστήματος και τα επίπεδα μεταγραφής του αντίστοιχου γονιδίου διαφέρουν αρκετά από αυτά του CRHR1.(45) Όμως, ομοίως με την έκφραση του CRHR1, η έκφραση του CRHR2 παρουσιάζει διαφοροποίηση με βάση την περιοχή που μελετάται και την ηλικία του πειραματόζωου.(45) Η έκφραση του

CRHR2 mRNA ήταν εμφανής στον έσω κοιλιακό υποθάλαμο (VMH) από την 16^η εμβρυϊκή ημέρα. Η έκφραση του CRHR2 στον VMH προηγείται της έκφρασης της ίδιας της CRH στον PVN. Οι μικροκυτταρικοί νευρώνες του παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου πρωτοεμφανίζονται την 16^η ημέρα κύησης και αρχίζουν να εκφράζουν την CRH 24 ώρες αργότερα.

Η έκφραση του CRHR2 υποδοχέα πριν την παρουσία του αντίστοιχου συνδέτη του, της CRH, υποδεικνύει ότι, πιθανώς, οι CRHR2s, κατά τα πρώιμα αναπτυξιακά στάδια, υπηρετούν λειτουργίες που είναι ανεξάρτητες της ενεργοποίησής τους από την CRH. Τέτοιες λειτουργίες θα μπορούσαν να είναι η κυτταρική αύξηση και η κυτταρική διαφοροποίηση.(45) Μια συμπληρωματική θεωρία είναι ότι οι συγκεκριμένοι υποδοχείς ενεργοποιούνται από κάποιον άλλο συνδέτη. Σε μικροσκοπική απεικόνιση, οι νευρώνες του VMH εμφανίζονται αδιαφοροποίητοι και με λίγα οργανίδια την πρώτη εβδομάδα μετά τη γέννηση. Αυτοί οι νευρώνες αποκτούν πλήρη έκταση συνάψεων και χαρακτηριστικά όμοια με αυτά των ενηλίκων την 20^η ημέρα μετά τη γέννηση. Οι μέγιστες τιμές του CRHR2 mRNA καταγράφονται περί των 15 με 25 ημερών μετά τη γέννα. Πιθανώς, λοιπόν, η ενεργοποίηση της παραγωγής CRHR2 υποδοχέων δεν απαιτεί την πλήρη λειτουργική ωρίμανση των νευρώνων του VMH.

Το CRHR2 mRNA εντοπίστηκε αποκλειστικά σε τρεις από τους πυρήνες της αμυγδαλής, στον έσω αμυγδαλειδή πυρήνα, στο βασικό αμυγδαλοειδή πυρήνα και στον cortical nucleus. Η έναρξη της έκφρασής του υποδοχέα αλλά και ο τρόπος με τον οποίο η έκφρασή του διαφοροποιείται χρονικά παρουσιάζει δύο συγκεκριμένα μοτίβα. Στον έσω αλλά και στο βασικό αμυγδαλοειδή πυρήνα η έκφραση του CRHR2 άρχισε να γίνεται αισθητή την 17^η ημέρα κύησης. Στον φλοιικό πυρήνα (cortical nucleus) έναρξη της έκφρασης του CRHR2 ήταν μετά τη γέννηση και τα επίπεδα του CRHR2 mRNA φαίνεται να αυξάνονται με την ηλικία. Όσον αφορά τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, εκεί τα επίπεδα CRHR2 είναι πάρα πολύ χαμηλά.(45) Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ο κεντρικός πυρήνας της αμυγδαλής είναι αυτός που κατέχει τον κύριο ρόλο στην μεταγωγή μηνυμάτων σε σχέση με το στρες και περιέχει ένα μεγάλο σύμπλεγμα από νευρώνες που εκφράζουν CRH , καθώς και σημαντικές συγκεντρώσεις CRHR1 mRNA.

Η CRH και οι υποδοχείς της έχουν καθοριστικό ρόλο στη δυσλειτουργία του HPA άξονα, που με τη σειρά της εμπλέκεται στην παθογένεση της κατάθλιψη, του υψηλού άγχους και του PTSD.(61) Θεωρείται ότι η διαμόρφωση της έκφρασης των υποδοχέων της CRH και η λειτουργία τους, τα πρώτα χρόνια της ζωής, αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα στην εμφάνιση νευρωνικής δυσλειτουργίας στη συνέχεια. Η δυσλειτουργία αυτή μπορεί να προκαλέσει αυξημένη ευαισθησία σε σχετιζόμενες με το στρες ασθένειες στην ενήλικη ζωή. Στα πρώτα στάδια της ζωής, οι αρνητικές εμπειρίες έχουν συσχετισθεί με την ευαισθητοποίηση της εξαρτώμενης από υποδοχείς CRH απόκρισης στο στρες στην ενήλικη ζωή. Επίμυες που είχαν αποχωριστεί από τη μητέρα τους σε μικρή ηλικία είχαν αυξημένη έκφραση του CRHR1 στον υποθάλαμο κατά την ενήλικη ζωή, κάτι που ήταν πιο εμφανές μετά από έκθεση σε οξύ στρες.(61)

Όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως, η εφηβεία αποτελεί, επίσης, μια κρίσιμη χρονική περίοδο αλλαγών με επιπτώσεις στη μετέπειτα ενήλικη ζωή. Το τραυματικό στρες στην πρώιμη εφηβεία προκαλεί μεταβολές στη συμπεριφορά, στη λειτουργία του HPA άξονα αλλά και την έκφραση του CRHR1 στην ενήλικη ζωή των επίμυων. (61) Το τραυματικό στρες κατά τη διάρκεια της εφηβείας προκαλεί αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα CRHR1 στον υποθάλαμο, στην αμυγδαλή και στον προμετωπιαίο φλοιό, ενώ μειώνει την έκφρασή του στον ιππόκαμπο στην ενήλικη ζωή. Είναι ενδιαφέρον ότι η έναρξη χορήγησης ενός ανταγωνιστή του CRHR1 υποδοχέα (CP-154) για χρονικό διάστημα 14 ημερών, την επομένη της εφαρμογής του τραυματικού στρες όταν οι αρουραίοι είναι ηλικίας 28 ημερών, παρουσιάζει αγχολυτική και αντικαταθλιπτική δράση στον μετέπειτα έλεγχο τους σε ηλικία περί των 51 ημερών. Η προαναφερθείσα χορήγηση αυτού του ανταγωνιστή προκαλεί μείωση της έκφρασης του CHR1 στον υποθάλαμο, στον ιππόκαμπο και την αμυγδαλή. Υπενθυμίζεται ότι ο υποθάλαμος δέχεται άμεση εισροή πληροφοριών από την αμυγδαλή και το μέσο προμετωπιαίο φλοιό κατά την απόκριση στο στρες, καταλήγοντας στη διέγερση της έκκρισης CRH από τον PVN. Αυτός με τη σειρά του ενεργοποιεί τη λειτουργία του HPA άξονα. Πέραν της ενεργοποίησης της λειτουργίας του HPA άξονα, η CRH δρα και ως νευροδιαβιβαστής στην αμυγδαλή, το μέσο προμετωπιαίο φλοιό και στον ιππόκαμπο, ρυθμίζοντας συμπεριφορές άγχους και κατάθλιψης μέσω ενεργοποίησης του CRHR1.(61)

Αλληλεπίδραση της CRH και των υποδοχέων της με εγκεφαλικές περιοχές πέραν του «κλασσικού» συστήματος του στρες

Οι ορμόνες του στρες δεν ρυθμίζουν μόνο τη λειτουργία των υποπεριοχών του υποθαλάμου, αλλά επηρεάζουν συναισθηματικές και εν γένει συμπεριφορικές και λειτουργίες μέσω αλληλεπίδρασης με άλλες δομές το εγκεφάλου. Οι μελέτες της απόκρισης του εγκεφάλου στο στρες μέσω της πλαστικότητάς του εστιάζονται στις δομές του ιππόκαμπου, του προμετωπιαίου φλοιού και της αμυγδαλής.(62) Η ανακάλυψη υποδοχέων των ορμονών του στρες στον ιππόκαμπο αποτέλεσε την αφορμή για τη μελέτη του μηχανισμού του στρες σε σχέση και με άλλες εγκεφαλικές περιοχές, όπως τον προμετωπιαίο φλοιό και την αμυγδαλή, όπου παρατηρείται αναδιαμόρφωση νευρώνων ως απόκριση σε οξύ αλλά και χρόνια στρες.

Ο ιππόκαμπος είναι μια περίπλοκη εγκεφαλική δομή και συμμετέχει στην κωδικοποίηση, αποθήκευση και ανάκτηση πληροφοριών, με χαρακτηριστικές λειτουργίες τη μάθηση και τη μνήμη. Ο αριθμός των υποδοχέων των ορμονών του στρες που παρουσιάζει ο ιππόκαμπος είναι υψηλός, κάτι που υποδεικνύει ότι ως εγκεφαλική περιοχή είναι ευαίσθητη στην επιρροή του στρες. Από την άλλη, ο ιππόκαμπος αποτελεί την πιο καλά μελετημένη περιοχή με κατασταλτική επίδραση στον HPA άξονα.(63) Την κατασταλτική δράση του ιππόκαμπου στη ρύθμιση του HPA άξονα υποστηρίζουν μελέτες με πειραματική βλάβη του. Μια βλάβη στον ιππόκαμπο μπορεί να διεγείρει την έκκριση γλυκοκορτικοειδών λόγω στρες και σε επίμυες και σε πρωτεύοντα, καθώς και να αυξήσει την έκφραση του mRNA της CRH και της AVP στους μικροκυτταρικούς νευρώνες του PVN. Συμπληρωματικές είναι και οι έρευνες που παρουσιάζουν πώς η διέγερση του ιππόκαμπου μειώνει τη δράση του HPA άξονα σε επίμυες και πρωτεύοντα.(63) Σε γενικές γραμμές, το ήπιο ή μικρής διάρκειας στρες ενισχύει τη λειτουργία του ιππόκαμπου μέσω της ενίσχυσης της συναπτικής πλαστικότητας. Οι μηχανισμοί του στρες, όμως, όταν υπερλειτουργούν ή δρουν για μεγάλη διάρκεια μπορούν να καταστήσουν τον ιππόκαμπο ευάλωτο στις αρνητικές επιρροές του χρόνιου ή οξέος στρες.

Χαρακτηριστικό είναι ότι, σε ανθρώπους και πειραματόζωα, το χρόνιο στρες δρα αρνητικά στη λειτουργία τόσο της μνήμης όσο και της μάθησης.

Είναι πλέον γνωστό ότι ο υπόκαμπος έχει τη δυνατότητα σύνθεσης και έκκρισης της CRH. Η πυραμιδική κυτταρική στοιβάδα του ενήλικου υπόκαμπου περιέχει έναν σημαντικό αριθμό κυττάρων που παράγουν CRH. Τα κύτταρα αυτά είναι ενδονευρώνες (basket- and chandelier-type), οι άξονες των οποίων σχηματίζουν περισωματικές και αξο-αξονικές συνάψεις, αντίστοιχα, με πυραμιδικά κύτταρα. Παρότι οι συγκεκριμένοι ενδονευρώνες συνθέτουν και εκκρίνουν τον κατασταλτικό νευροδιαβιβαστή GABA, η δράση της CRH στον υπόκαμπο είναι κυρίως διεγερτική (βλ. παρακάτω). Ενδιαφέρον είναι ότι κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του υπόκαμπου, ο αριθμός των ενδονευρώνων που παράγουν CRH είναι αρκετά υψηλός και αυτά τα κύτταρα συνοδεύονται παροδικά από ένα π.πληθυσμό κυττάρων της μορφής Cajal-Retzius που, επίσης, παράγουν CRH, κάτι που υποδεικνύει ότι η συγκεκριμένη ορμόνη έχει κάποιο ρόλο στην ωρίμανση της συγκεκριμένης εγκεφαλικής περιοχής.(64) Η κατανομή των υποδοχέων της CRH καθώς και η λειτουργία τους στον υπόκαμπο διαφέρει. Η πλειονότητα των δεδομένων υποστηρίζει ότι ο CRHR1 είναι αυτός που κυρίως ρυθμίζει τη δράση αυτού του πεπτιδίου στα πυραμιδικά κύτταρα του υπόκαμπου. Τα πυραμιδικά κύτταρα εμφανίζουν υψηλή έκφραση του CRHR1 υποδοχέα, ενώ η έκφραση του υποδοχέα CRHR2 είναι περιορισμένη. Η σημασία της αλληλεπίδρασης CRHR1-CRH στους νευρώνες του υπόκαμπου είναι μέγιστης σημασίας, καθώς μελέτες με knockout για το CRHR1 γονίδιο πειραματόζωα δείχνουν ότι η μεταγωγή σήματος μέσω του CRHR1 είναι απαραίτητα για την νευροπλαστικότητα του υπόκαμπου, ακόμα και όταν απουσιάζει το στρες.(64)

Κατά τη διάρκεια εφαρμογής στρες χρονικής διάρκειας λίγων λεπτών, η έκκριση CRH στον υπόκαμπο επάγει τη συναπτική πλαστικότητα και αποτελεί σημείο εκκίνησης για την επίτευξη μακροχρόνιας ενίσχυσης των συνάψεων (LTP). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, η κυτταρική αυτή διεργασία συνδέεται με θετικές επιρροές στη μνήμη και τη μάθηση, κάτι που υποστηρίζουν και πειράματα κατά τα οποία η χορήγηση CRH στον εγκέφαλο βελτιώνει τη πρόσληψη και διατήρηση πληροφοριών σε διεργασίες που ρυθμίζονται από τον υπόκαμπο. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η CRH επηρεάζει την συναπτική λειτουργία σε χρονική κλίμακα

δευτερολέπτων έως λεπτών, δεν είναι πλήρως γνωστός, πιθανόν όμως να περιλαμβάνει αύξηση στην προσυναπτική απελευθέρωση γλουταμικού ή/και αυξημένη μετασυναπτική διεγερσιμότητα. Αυτό ίσως επιτυγχάνεται με μείωση της υπερπόλωσης που ακολουθεί τη μετασυναπτική εκπόλωση από τη δράση του γλουταμικού.

Αντίθετα με τα προηγούμενα, το στρες και η έκθεση σε CRH που διαρκούν από ώρες έως μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα οδηγούν σε μείωση της συναπτικής λειτουργίας και πλαστικότητας, με ταυτόχρονη εμφάνιση δυσλειτουργιών στη μάθηση και τη μνήμη. Στον ιππόκαμπο, μετά από εφαρμογή στρες διάρκειας μιας ώρας παρατηρείται μείωση δενδριτικών ακάνθων στους κορυφαίους δενδρίτες των CA1 και CA3 πυραμιδικών νευρώνων. Η απώλεια δενδριτικών ακάνθων στην ακτινωτή στοιβάδα φαίνεται να εξαρτάται από τη μεταβίβαση σήματος μέσω του CRHR1.(64) Η επιλεκτική μείωση δενδριτικών ακάνθων που εξαρτάται από τη CRH έχει μεγάλη λειτουργική σημασία, μια και συνδέεται με την εξασθενημένη LTP στις στοχευμένες συνάψεις και βλάβες στη μνήμη. Όταν το στρες είναι χρόνιο και διαρκεί μέρες ή και εβδομάδες παρατηρούνται περαιτέρω αλλαγές στους νευρώνες του ιππόκαμπου, όπως μικρότερο μήκος και πολυπλοκότητα δενδριτών. Η CRH φαίνεται να μετέχει στις αλλαγές αυτές. Χαρακτηριστικό είναι ότι η παρεμπόδιση της μετάδοσης σήματος μέσω αλληλεπίδρασης CRH-CRHR1, κάτι που επιτυγχάνεται με χρήση φαρμακολογικού καταστολέα ή με γενετικό knock-out για τον υποδοχέα, οδηγεί σε έντονη διακλάδωση των δενδριτών. Αυτές οι δομικές αλλαγές που προκαλούνται στον ιππόκαμπο από την έκθεσή του σε χρόνιο στρες ή τη χορήγηση CRH μαζί με δομικές και λειτουργικές αλλαγές που προκαλούν άλλοι παράγοντες του στρες οδηγούν σε ελλείψεις στη μάθηση και τη μνήμη.(64)

Το στρες σε πρώιμη ηλικία οδηγεί σε παραγωγή υψηλών επιπέδων γλυκοκορτικοειδών που φτάνουν στον ιππόκαμπο και βλάπτουν τις δενδριτικές ακάνθους. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η CRH εκκρίνεται στον ιππόκαμπο, οπότε η ίδια μπορεί να είναι ικανή και απαραίτητη για την έναρξη μεταβολών στους νευρώνες της συγκεκριμένης εγκεφαλικής περιοχής, μετά από έκθεση σε στρες σε μικρή ηλικία. Η έκθεση τομών ιστολογικών καλλιεργείων (organotypic hippocampal slice cultures) του ιππόκαμπου σε CRH, απουσία γλυκοκορτικοειδών, είναι επαρκής για τη μείωση της πυκνότητας των δενδριτικών ακάνθων και ατροφία των

δενδριτών στις ίδιες κορυφαίες περιοχές που επηρεάζονται από το στρες πρώιμης ηλικίας(64) Εκτός αυτού, η χορήγηση CRH απευθείας στο εγκέφαλο νεογέννητων αρουραίων αναπαράγει τις δυσκολίες στη μάθηση και στη μνήμη που παράγει το στρες πρώιμης ηλικίας, ακόμα και όταν τα επίπεδα των γλυκοκορτικοειδών διατηρούνται σε φυσιολογικές τιμές. Είναι χαρακτηριστικό ότι η χορήγηση φαρμακολογικού ανταγωνιστή του CRHR1 κατά κρίσιμες αναπτυξιακές περιόδους σε επίμυες που έχουν εκτεθεί σε στρες στα πρώτα στάδια της ζωής τους διασώζει τη δενδριτική δομή, τη LTP και τη γνωστική λειτουργία. Επιπλέον, ποντίκια στα οποία απουσιάζει ο CRHR1 στον πρόσθιο εγκέφαλο εμφανίζουν αντοχή στις αρνητικές επιρροές του πρώιμου στρες στη δομή και λειτουργία του ιππόκαμπου. Το χρόνιο στρες στα πρώτα στάδια της ζωής αυξάνει την έκφραση της CRH στον ιππόκαμπο, με τέτοιο τρόπο ώστε όταν ο οργανισμός χρειαστεί να αποκριθεί σε στρεσογόνους παράγοντες στη μετέπειτα ζωή οι ποσότητες CRH που θα εκκριθούν θα είναι μεγαλύτερες. Το γεγονός αυτό συμβάλει στις προοδευτικές βλάβες που παρουσιάζει ο ιππόκαμπος στη δομή και τη λειτουργία του.(64)

Η δράση του στρες στον ιππόκαμπο, καθώς αυτός ωριμάζει, είναι μεταβαλλόμενη και η δυνατότητα της CRH να προκαλεί δομικές και λειτουργικές αλλαγές, στη συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου, είναι δόσοεξαρτώμενη. Τα φυσιολογικά επίπεδα έκκρισης CRH, πιθανώς, είναι απαραίτητα για τη γνωστική λειτουργία. Καθώς ο εγκέφαλος ωριμάζει, τα, σχετικά, υψηλά επίπεδα δέσμησης της CRH από τη CRH-BP, απομονώνουν το πεπτιδίο και μειώνουν την αλληλεπίδραση CRH-CRHR1. Πειράματα σε επίμυες μεγάλης ηλικίας δείχνουν ότι η αποδέσμευση της ενδογενούς CRH από την CRH-BP αυξάνει τα επίπεδα του πεπτιδίου που μπορούν να δεσμευτούν από τον CRHR1, κάτι που οδηγεί σε βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας των πειραματόζωνων. Αντιθέτως, τα παθολογικά υψηλά επίπεδα CRH, ως επακόλουθο του χρόνιου στρες, έχουν αρνητικές επιπτώσεις στον ιππόκαμπο. Το στρες φαίνεται να ενισχύει την υπερφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης tau καθώς και τα επίπεδα του β-αμυλοειδούς σε διαγονιδιακά ποντίκια που χρησιμοποιούνται ως μοντέλο για τη μελέτη της νόσου Alzheimer. Όταν οι συγκεντρώσεις της CRH στον ιππόκαμπο είναι υψηλές, αυτή εμφανίζεται να αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες tau και β-αμυλοειδές και οδηγεί σε γνωστικές δυσλειτουργίες.(64) Χαρακτηριστικό είναι ότι η παρεμπόδιση της λειτουργίας του

CRHR1 υποδοχέα πριν την έκθεση ενός πειραματόζωου στο στρες αποτρέπει τις αλλαγές στη φωσφορυλίωση της tau και στα επίπεδα του β-αμυλοειδούς, καθώς και προλαμβάνει τις δυσλειτουργίες στη μνήμη και στη μάθηση. Ακόμα και απουσία στρες, οι υψηλές συγκεντρώσεις CRH στον ιππόκαμπο είναι από μόνες τους ικανές να αυξήσουν τόσο τη φωσφορυλίωση της tau, όσο και τα επίπεδα του β-αμυλοειδούς. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι η CRH έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας των συγκεκριμένων μορίων. Συνεπώς, καθώς ο ιππόκαμπος ωριμάζει, μπορεί να εμφανιστεί μια σχετική μείωση στα φυσιολογικά επίπεδα της CRH, αλλά η ευαισθησία στις αρνητικές επιδράσεις των υψηλών επιπέδων CRH είναι μεγαλύτερη.(64)

Η αμυγδαλή έχει κύριο ρόλο στην απόδοση συναισθηματικής σημασίας στις αισθητηριακές πληροφορίες. Πειράματα δείχνουν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της αμυγδαλής συνδέεται με συγκεκριμένες συναισθηματικές καταστάσεις, μερικές εκ των οποίων είναι ο φόβος και το άγχος.(65) Η ίδια, επίσης, έχει κύριο ρόλο σε νευροενδοκρινολογικές αλλαγές, καθώς και μεταβολές το αυτόνομου νευρικού συστήματος που σχετίζονται με την απόκριση στο στρες. Εκτός αυτού, η περιοχή αυτή περιέχει σημαντικό αριθμό νευρώνων που συνθέτουν CRH και επιπλέον εμφανίζει υψηλή έκφραση και των δύο μορφών υποδοχέων της ορμόνης αυτής. Παρουσία στρες, η CRH εκκρίνεται στην αμυγδαλή και η ενεργοποίηση των τοπικών CRHRs αποτελεί υπόβαθρο για αλλαγές στη συναισθηματική συμπεριφορά.

Η δραστηριότητα της αμυγδαλής ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ της διέγερσης που προκαλείται από το γλουταμικό και της καταστολής που ελέγχεται από το GABA. Ο ρόλος συγκεκριμένων πυρήνων της αμυγδαλής στη δημιουργία αρνητικών συναισθηματικών αποκρίσεων στο στρες έχει μελετηθεί, κυρίως, μέσω των παραδειγμάτων εξαρτημένης μάθησης φόβου.(66) Στην αμυγδαλή, οι κύριοι πυρήνες που ρυθμίζουν τις συναισθηματικές αποκρίσεις είναι ο κεντρικός πυρήνας της αμυγδαλής (CeA) και ο βασικός-έξω πυρήνας της αμυγδαλής (BLA). Ο CeA είναι η κύρια περιοχή της αμυγδαλής που συμμετέχει στη συναισθηματική απόκριση (έξοδος αμυγδαλής-σωματική έκφραση συναισθημάτων) σε πειράματα που κάνουν χρήση εξαρτημένης μάθησης φόβου. Διακοπή της λειτουργίας του BLA καταστέλλει την εγκαθίδρυση φόβου μέσω εξαρτημένης μάθησης και τις συναισθηματικές αποκρίσεις, καθώς και την ανάκτηση απαραίτητων πληροφοριών για την έκφραση

συναισθημάτων. Τα προηγούμενα προωθούν τη θεωρία ότι ο BLA είναι κύριο τμήμα σύγκλισης και μετάδοσης αναγκαίων πληροφοριών για τις αγχώδεις αποκρίσεις.(66)

Πειράματα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση των CRHRs έπειτα από έκκριση ή χορήγηση CRH στον CeA δεν είναι απαραίτητη για την εμφάνιση συμπεριφορικών αλλαγών που σχετίζονται με το άγχος.(67) Αντιθέτως, μελέτες πάνω στον BLA αποκαλύπτουν ότι ο συγκεκριμένος πυρήνας της αμυγδαλής επηρεάζεται από τη CRH και συμμετέχει στις προαναφερθείσες συμπεριφορικές αλλαγές.(66) Όπως έχει ήδη καταγραφεί προηγουμένως, ο BLA παρουσιάζει υψηλή συναπτική πλαστικότητα και παίζει σημαντικό ρόλο στη συναισθηματική συμπεριφορά. Στον BLA, η άρση της καταστολής από τα GABAεργικά κύτταρα ή η απελευθέρωση CRH οδηγούν στην οξεία ενεργοποίηση των γλουταμικών υποδοχέων κάτι που επιφέρει τη μακροχρόνια συναπτική πλαστικότητα και αυξάνουν τη διεγερσιμότητα των νευρώνων.

Άλλες έρευνες καταγράφουν ότι οι αγχώδεις αποκρίσεις που παρουσιάζονται μετά το στρες περιορισμού ρυθμίζονται από την ενεργοποίηση υποδοχέων της CRH στην αμυγδαλή.(66) Σε επίμυες, το στρες περιορισμού, το στρες που συνδέεται με το σύνδρομο στέρησης κάποιας ναρκωτικής ουσίας καθώς και η έκθεση νεογνών σε στρεσογόνους παράγοντες προκαλούν έκκριση CRH στην αμυγδαλή. Εκτός αυτού, στους επίμυες, η ποσότητα CRH mRNA της αμυγδαλής αυξάνεται μετά από εφαρμογή στρες. Είναι επίσης γνωστό ότι το χρόνιο επαναλαμβανόμενο στρες οδηγεί σε συγκεκριμένες αλλαγές στη συναπτική πλαστικότητα της αμυγδαλής. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η αύξηση έκκρισης CRH λόγω στρες στην αμυγδαλή μπορεί να συμβάλλει σε αλλαγές της συναισθηματικής κατάστασης που είναι χαρακτηριστικές, κυρίως, του χρόνιου στρες.

Το βασικό-έξω σύμπλεγμα της αμυγδαλής που περιλαμβάνει τον BLA πυρήνα και τον έξω πυρήνα της αμυγδαλής, δέχεται έντονα επεξεργασμένες πληροφορίες από φλοιϊκές περιοχές, όπως ο οπτικός φλοιός, ο ακουστικός φλοιός, ο σωματοαισθητικός φλοιός και ο οσφρητικός φλοιός.(66) Το βασικό-έξω σύμπλεγμα της αμυγδαλής θεωρείται υπεύθυνο για την επεξεργασία των παραπάνω πληροφοριών από το φλοιό και την αντιστοίχησή τους με κάποια συναισθηματική αξία. Η έκκριση CRH στην αμυγδαλή και η επακόλουθη

ενεργοποίηση των υποδοχέων της, με τον CRHR1 να είναι ο κύριος τύπος υποδοχέα που εμπλέκεται, φαίνεται να έχει κύριο ρόλο στην αντιστοίχιση συναισθημάτων σε μια ποικιλία σημάτων που προκαλούν άγχος ή αρνητικά συναισθήματα. Η κύρια πηγή παροχής CRH στον BLA δεν είναι ξεκάθαρη. Υπάρχουν κύτταρα που εκφράζουν CRH στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής και στον βασικό πυρήνα της τελικής ταινίας (BNST), με τις περιοχές αυτές να προβάλλουν στον BLA. Κατά αυτόν τον τρόπο, είναι πιθανό η εισροή της CRH στον BLA να προέρχεται από την ίδια την αμυγδαλή.

Ο έσω προμετωπιαίος φλοιός (mPFC) παρουσιάζει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς έχει ρόλο στη μνήμη εργασίας, στη μάθηση, στη στόχευση της προσοχής σε κάποιο ερέθισμα και στη συναισθηματική συμπεριφορά. Θεωρείται, επίσης, ότι έχει τη δυνατότητα αξιολόγησης των πληροφοριών που δέχεται. Η ικανότητα αυτή του mPFC είναι απαραίτητη για την επεξεργασία αρνητικών ερεθισμάτων, όπως είναι οι στρεσογόνοι παράγοντες. Τόσο το οξύ στρες όσο και το χρόνιο στρες φαίνεται να δημιουργούν προβλήματα στη λειτουργία του mPFC. Αποτέλεσμα της αρνητικής αυτής επιρροής του στρες στον έσω προμετωπιαίο φλοιό είναι, μεταξύ άλλων, η εξασθένηση της γνωστικής προσαρμογής κάτι που επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό την ποιότητα ζωής.(68) Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών δείχνει ότι η συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου επηρεάζει τη λειτουργία του νευροενδοκρινικού συστήματος του στρες, και συγκεκριμένα τον HPA άξονα.(69) Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι οι CRHR1 υποδοχείς, που έχουν βασικό ρόλο στο σύστημα του στρες, εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στον mPFC. Με βάση τα σύγχρονα δεδομένα, στα τρωκτικά, ο CRHR2 δεν έχει βρεθεί στον έσω προμετωπιαίο φλοιό.

Η χρήση του ανταγωνιστή D-Phe-CRH της CRH στον έσω προμετωπιαίο φλοιό φαίνεται να επηρεάζει τη λειτουργία του HPA άξονα. Μικρή δόση του συγκεκριμένου ανταγωνιστή στον mPFC, στα 50ng, μειώνει την απόκριση της κορτικοστερόνης στο στρες περιορισμού σε επίμυες που είχαν υποβληθεί είτε σε οξύ είτε σε επαναλαμβανόμενο στρες, 15 και 30 λεπτά μετά την εφαρμογή του στρεσογόνου ερεθίσματος. Η δόση αυτή, πάντως, δεν είχε κάποια σημαντική επιρροή στα επίπεδα της ACTH. Μεγαλύτερη δόση, των 100ng, του ανταγωνιστή κατέστειλε την απόκριση τόσο της ACTH όσο και της κορτικοστερόνης, 30 λεπτά

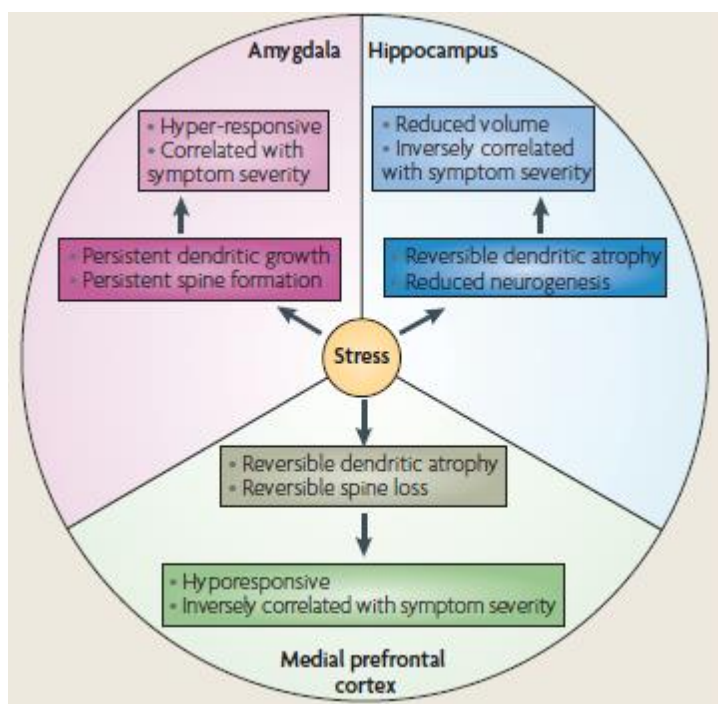
μετά την εφαρμογή του στρέσορα σε επίμυες που είχαν υποστεί οξύ ή επαναλαμβανόμενο στρες. Ο υπομεταιχμιακός mPFC προβάλλει σε ομάδες κυττάρων του υποθαλάμου και του εγκεφαλικού στελέχους που σχετίζονται με το αυτόνομο νευρικό σύστημα και τα σπλάχνα. Αυτές οι κυτταρικές ομάδες μπορεί να έχουν κύριο λόγο στη ρύθμιση των σπλαχνικών αποκρίσεων σε ερεθίσματα συναισθηματικής μορφής. Έτσι, η αυτόνομη εννεύρωση των επινεφριδίων μπορεί να δρα ως ένας επιπλέον της ACTH μηχανισμός που ρυθμίζει την έκκριση γλυκοκορτικοειδών. Αυτό μπορεί να αιτιολογήσει την παρατήρηση ότι στα 50ng η χορήγηση ανταγωνιστή της CRH αλλάζει τα επίπεδα της κορτικοστερόνης χωρίς να επηρεάζει πολύ τα επίπεδα ACTH. Στην περίπτωση όπου η δόση του ανταγωνιστή της CRH έφτασε τα 100ng υποδεικνύεται ότι η μεγαλύτερη δοσολογία επηρέασε και επιπλέον συστήματα που επηρεάζουν την απόκριση της ACTH.(69)

Η χορήγηση CRH στον mPFC σε επίμυες που έχουν υποστεί οξύ ή επαναλαμβανόμενο στρες φαίνεται, επίσης, να αυξάνει την αγχώδη συμπεριφορά. Καθώς η χρήση ανταγωνιστή των CRHR1 υποδοχέων καταστέλλει τις αποκρίσεις ACTH και κορτικοστερόνης φαίνεται ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες η CRH στον mPFC έχει διεγερτική δράση στην απόκριση του HPA άξονα στο οξύ ή επαναλαμβανόμενο στρες. Παρότι ο έσω προμετωπιαίο φλοιός δεν εννεурώνει άμεσα τον PVN, μπορεί να ελέγχει τη δραστηριότητα του HPA άξονα μέσω της σύνδεσής του με γειτονικές του περιοχές ή με τον BNST. Ένας άλλος πιθανός τρόπος με τον οποίο ο mPFC πιθανόν ρυθμίζει τη δραστηριότητα του άξονα είναι μέσω της αλληλεπίδρασής του με τις περιοχές των BL Ακai CeA, οι οποίες προβάλλουν έμμεσα στον PVN διαμέσου του BNST.

Θεωρείται ότι ένα από τα σηματοδοτικά μονοπάτια που ακολουθούνται μετά την ενεργοποίηση του CRHR1 στον έσω προμετωπιαίο φλοιό και οδηγούν στην εμφάνιση γνωστικών δυσλειτουργιών είναι αυτό της PKA και μετέπειτα φωσφορυλίωσης του CREB.(68) Σε χαρακτηριστική έρευνα οι επίμυες στους οποίους χορηγείται CRH εμφανίζουν γνωστικές δυσλειτουργίες, οι οποίες απουσιάζουν κατά την ταυτόχρονη χορήγηση αναστολέα της PKA. Επιπλέον, μια ιδιότητα της PKA είναι ότι υπερβολική της δραστηριότητα έχει συσχετισθεί με τις δυσλειτουργίες του mPFC που παρουσιάζονται σε μεγαλύτερες ηλικίες. Το γεγονός αυτό συμφωνεί με τα περισσότερα ευρήματα που βρίσκουν τις PKA και PKC ως σημαντικούς

παράγοντες στη μεταγωγή μηνύματος μετά την ενεργοποίηση του CRHR1 υποδοχέα.

Η PKA φαίνεται να έχει καθοριστικό ρόλο στη μετάδοση το σήματος μετά την ενεργοποίηση του CRHR1 και τη φωσφορυλίωση του CREB. Με βάση μελέτες, η PKA εμπλέκεται σε σημαντικό αριθμό γνωστικών προβλημάτων σε λειτουργίες που βασίζονται στην mPFC. Η υπερβολική δραστηριότητα της PKA θεωρείται από τους κύριους παράγοντες που προκαλούν δυσλειτουργίες του mPFC σε μεγαλύτερες ηλικίες. Όσο για την PKC, ακολουθώντας την ενεργοποίηση του CRHR1 στον, η ίδια φαίνεται να συμμετέχει στη ρύθμιση της σεροτονεργικής δραστηριότητας μετά από εφαρμογή στρες. Επίσης, μελέτες παρουσιάζουν ότι η PKC συμμετέχει στις δομικές και λειτουργικές αλλαγές που προκαλεί το στρες στον έσω προμετωπιαίο φλοιό. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στρεσαρισμένα τρωκτικά έχουν υψηλά επίπεδα PKC στον mPFC και παρουσιάζουν προβλήματα στη μνήμη εργασίας. Η συγκεκριμένη κατάσταση ανατρέπεται μετά την καταστολή της PKC στη συγκεκριμένη εγκεφαλική περιοχή.(68)



Εικόνα 13: Η επιρροή του στρες στον ιππόκαμπο, στην αμυγδαλή και το μέσο προμετωπιαίο φλοιό. Η CRH έχει σημαντικό ρόλο στην πρόκληση των συγκεκριμένων μεταβολών σε αυτές τις εγκεφαλικές περιοχές. (14)

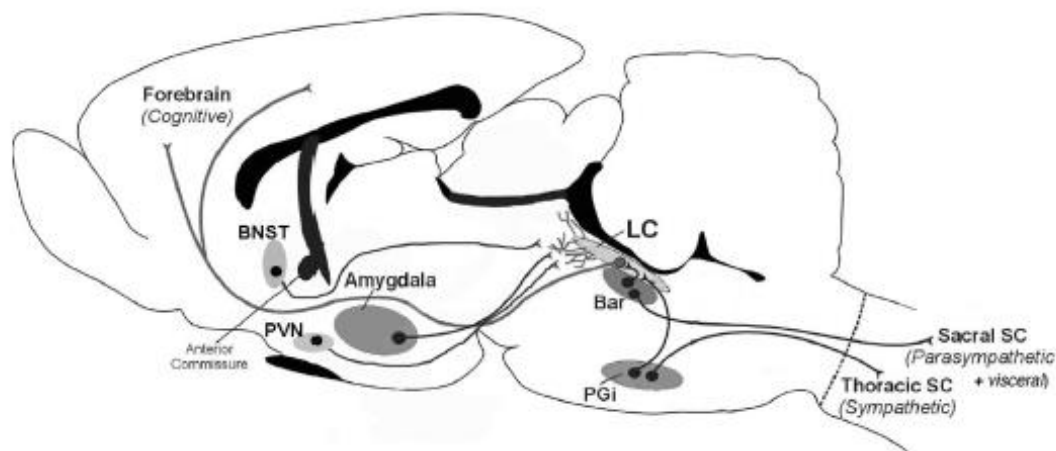
Αλληλεπίδραση της CRH και των υποδοχέων της με το σύστημα LC/NE

Ο υπομέλανας τόπος (Locus Coeruleus, LC) είναι η κύρια περιοχή του εγκεφάλου που παράγει νοραδρεναλίνη. Ο ίδιος αποτελεί και περιοχή-στόχο της CRH, με την επίδραση της νευροορμόνης να θεωρείται σημαντική για διάφορες γνωστικές λειτουργίες.(70) Θετικές σε CRH νευρικές ίνες εννευρώνουν το πυρηνικό κέντρο του LC, με την πιο πυκνή εννεύρωση όμως να παρατηρείται στις γύρω περιοχές, όπου προβάλλουν οι άξονες του επικλινή πυρήνα. Μελέτες στις περιοχές αυτές βρίσκουν ανατομικά υποστρώματα τόσο για άμεση όσο και έμμεση δράση της CRH στους νευρώνες του LC.(71) Οι συνάψεις μεταξύ των τελικών κομβίων που εκφράζουν CRH και των δενδριτών του LC, με την πλειοψηφία τους να είναι διεγερτικής φύσεως, υποδεικνύουν την άμεση ρυθμιστική δράση της νευροορμόνης σε αυτή την εγκεφαλική περιοχή. Επιπροσθέτως, CRH-θετικά τελικά κομβία που βρίσκονται κοντά σε κύτταρα που σχηματίζουν συνάψεις με δενδρίτες του υπομέλανα τόπου υποδεικνύουν την έμμεση ρυθμιστική δράση της CRH στον LC με προσυναπτικό τρόπο. Σε συμφωνία με το γεγονός ότι η πλειοψηφία των CRH-θετικών τελικών κομβίων δημιουργούν διεγερτικού τύπου συνάψεις με τους δενδρίτες του LC, το γλουταμικό, συχνά, συναντάται τοπικά μαζί με τη CRH σε τελικά κομβία στην περιοχή του υπομέλανα τόπου. Πέραν της συγκεκριμένης κατάστασης, κομβία που εκφράζουν αποκλειστικά CRH και κομβία που εκφράζουν αποκλειστικά γλουταμικό φαίνεται να βρίσκονται συχνά κοντά ή να συγκλίνουν σε κοινούς δενδρίτες στην πρόσθια έξωδενδριτική περιοχή του LC.(71) Επίσης, μερικές φορές η CRH εντοπίζεται μαζί με την εγκεφαλίνη σε τελικά κομβία που βρίσκονται στην περιοχή του υπομέλανα τόπου. Εκτός αυτού, υπάρχουν ενδείξεις ότι τελικά κομβία που εκφράζουν μόνο CRH και τελικά κομβία που εκφράζουν μόνο εγκεφαλίνη συγκλίνουν σε κοινούς δενδρίτες του LC, παρέχοντας έτσι ένα ανατομικό υπόστρωμα για τη ρύθμιση του συστήματος LC/NE.

Η μελέτη των υποδοχέων της CRH στον υπομέλανα τόπο δίνει αντιφατικά αποτελέσματα. Έρευνες που χρησιμοποιούν τη διαδικασία της *in situ* υβριδοποίησης δεν εντοπίζουν CRHR mRNA στους νευρώνες του υπομέλανα τόπου. Μια πιθανή ερμηνεία των αποτελεσμάτων αυτών είναι ότι η CRH αλληλεπιδρά προσυναπτικά με υποδοχείς σε κομβία εντός του LC, με τα κυτταρικά σώματα των

αντίστοιχων νευρώνων όμως να βρίσκονται μακριά από τον ίδιο. Σε αντίθεση με αυτές τις έρευνες, μελέτες που κάνουν χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και μεθόδους ανοσοϊστοχημείας εντοπίζουν υποδοχείς της CRH σε δενδρίτες του LC, ενώ μπορούν να ανιχνεύσουν και τη μετακίνηση του σημασμένου υποδοχέα προς το εσωτερικό του κυττάρου (εσωτερικοποίηση, internalization) μετά την αλληλεπίδρασή του με κάποιον αγωνιστή. Σημαντικό είναι και το γεγονός ότι το στρες προωθεί την κυτταρική μετακίνηση του υποδοχέα στο σώμα και στους δενδρίτες νευρώνων του LC, μια δραστηριότητα που εξασθενεί αν έχει προηγηθεί χορήγηση ενός ειδικού ανταγωνιστή του CRHR1 υποδοχέα.(71)

Η εισροή CRH στον υπομέλανα τόπο γίνεται διαμέσου προβολών από τον CeA, τον BNST, τον PVN, τον πυρήνα του Barrington και τον παραγιγαντοκυτταρικό πυρήνα. Οι κόμβοι που σχηματίζουν οι συγκεκριμένες προβολές παρουσιάζουν τοπογραφική οργάνωση. Οι CRH νευρώνες του πυρήνα του Barrington και του παραγιγαντοκυτταρικού πυρήνα έχουν άξονες που καταλήγουν στο κεντρικό τμήμα του LC. Αντιθέτως, προβολές από τον CeA και τον BNST καταλήγουν έξω από το κεντρικό τμήμα, στην έξω ρυγχιαία περιοχή γύρω από αυτόν, η οποία αποτελεί και ζώνη δενδριτών του LC. Θεωρείται ότι οι CRH νευρώνες του PVN προβάλλουν και στις δύο περιοχές που αναφέρθηκαν παραπάνω.(71) Οι CRH νευρώνες των CeA, BNST, PVN, πυρήνα του Barrington και παραγιγαντοκυτταρικού πυρήνα σχηματίζουν συνδέσεις και με άλλες περιοχές-στόχους του εγκεφάλου, ενώ ταυτόχρονα αλληλεπιδρούν με τον LC.



Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση των περιοχών που εμφανίζουν CRH προβολές προς τον Υπομέλανα Τόπο. Οι CRH νευρώνες από τον πυρήνα του

Barrington και από τον παραγιγαντοκυτταρικό πυρήνα καταλήγουν στον πυρήνα του LC, ενώ οι CRH νευρώνες από BNST, CeA και PVN καταλήγουν έξω από αυτόν.
(71)

Η μελέτη των δικτύων που σχηματίζουν οι προαναφερθέντες πυρήνες μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για τη συμμετοχή του υπομέλανα τόπου σε περίπλοκες εγκεφαλικές λειτουργίες. Για παράδειγμα, μελέτη πάνω στον πυρήνα του Barrington δείχνει ότι ένας μεγάλος αριθμός νευρώνων του ίδιου παρουσιάζουν αποκλίνουσες προβολές έτσι ώστε να εννευρώνουν ταυτόχρονα τον LC και την προγαγγλιακή στήλη του οσφυοϊερού νωτιαίου μυελού, περιοχή που παρέχει παρασυμπαθητική εισροή πληροφοριών στα πυελικά σπλάχνα. Το δίκτυο αυτό που περιέχει CRH κατέχει τέτοια θέση έτσι ώστε να ρυθμίζει ταυτόχρονα το νοραδρενεργικό σύστημα του LC και το οσφυοϊερό σπονδυλικό παρασυμπαθητικό σύστημα. Θεωρείται ότι το ίδιο συντονίζει τις κεντρικές με τις σπλαχνικές αποκρίσεις σε διάφορα πυελικά σπλαχνικά ερεθίσματα. (71)

Άλλες έρευνες δείχνουν ότι οι CRH νευρώνες του PVN που προβάλλουν στον υπομέλανα τόπο είναι διαφορετικοί από τους νευρώνες που προβάλλουν στη μέση προεξοχή του υποθαλάμου. Οι νευρώνες που προβάλλουν στη μέση προεξοχή μπορούν να προκαλέσουν την έναρξη της έκκρισης αδρενοκορτικοτροπίνης (ACTH) ως απάντηση σε κάποιο στρεσογόνο ερέθισμα. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η νευροορμονική δράση της CRH τίθεται σε λειτουργία ανεξάρτητα της νευρορυθμιστικής της δράσης.

Διαφορετικές πηγές παραγωγής CRH τίθενται σε λειτουργία από διαφορετικά ερεθίσματα για να ενεργοποιήσουν τον LC. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ότι ο υπομέλανας τόπος ενεργοποιείται από μη επιβλαβή επίπεδα επέκτασης του παχέος εντέρου, δραστηριότητα που ρυθμίζεται μέσω έκκρισης CRH από νευρώνες του πυρήνα του Barrington που προβάλλουν στον LC. Σε αντίθεση με τη διάταση του παχέος εντέρου, το υποτασικό στρες ενεργοποιεί τον υπομέλανα τόπο-νοραδρενεργικό σύστημα μέσω προβολών θετικών σε CRH από τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής. Πέραν του ρόλου του στην απόκριση στο φόβο, ο κεντρικός πυρήνας της αμυγδαλής συντονίζει πληροφορίες που προέρχονται από το καρδιαγγειακό σύστημα και άλλα σπλάχνα με τη συμπεριφορά.

Συνεπώς, η συμμετοχή του CeA στην ενεργοποίηση του συστήματος υπομέλανας τόπος-νοραδρενεργικό στην περίπτωση της υπότασης μπορεί να υποστηριχθεί και από το παραπάνω γεγονός. Ο κεντρικός πυρήνας της αμυγδαλής συντονίζει αυτόνομες και συμπεριφορικές αποκρίσεις σε συναισθηματικά ερεθίσματα όπως ο φόβος, μέσω προβολών του στην έξω περιοχή του υποθαλάμου και στη κεντρική περί τον υδραγωγό φαία ουσία. Θεωρείται ότι οι προβολές του κεντρικού πυρήνα της αμυγδαλής σε δενδρίτες του LC που βρίσκονται στην έξω ρυγχιαία περιοχή γύρω από τον υπομέλανα τόπο πιθανόν συμμετέχουν στη γνωστική απόκριση στο φόβο.(71)

Η CRH έχει τη δυνατότητα να αυξήσει τον τονικό ρυθμό εκφόρτισης του LC. Έρευνες *in vitro*, που μελετάνε την επίδραση της CRH σε νευρώνες του υπομέλανα τόπου δείχνουν ότι η συγκεκριμένη ορμόνη αυξάνει το ρυθμό εκφόρτισης των συγκεκριμένων νευρώνων ακόμα και όταν η συναπτική δραστηριότητα έχει κατασταλαθεί. Τα δεδομένα αυτά φαίνεται να συμφωνούν με μελέτες *in vivo* που υποστηρίζουν ότι η CRH έχει άμεση επίδραση στους νευρώνες του LC. Η ενεργοποίηση των νευρώνων του υπομέλανα τόπου επιτυγχάνεται μέσω των CRHR1s. Ταυτόχρονα με την εκφόρτιση των νευρώνων του LC, η CRH έχει τη δυνατότητα να αυξάνει την έκφραση της c-fos στον υπομέλανα τόπο και την απελευθέρωση νοραδρεναλίνης στις περιοχές γύρω των τελικών κομβίων.

Η ενεργοποίηση του LC από τη CRH διαφέρει από την ενεργοποίησή του από διεγερτικά αμινοξέα.(71) Η διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι η ενεργοποίηση των νευρώνων από τη CRH οδηγεί σε χαμηλότερη μέγιστη ενεργοποίηση των νευρώνων από ό,τι η αντίστοιχη μέγιστη ενεργοποίηση από τη δράση κάποιου διεγερτικού αμινοξέος. Επίσης, η έναρξη της δράσης της είναι πιο αργή αλλά η διάρκειά της μεγαλύτερη. Οι διαφορές αυτές στον τρόπο ενεργοποίησης των νευρώνων του LC προτείνουν ότι η CRH και τα διεγερτικά αμινοξέα έχουν διαφορετικό ρυθμιστικό ρόλο σε αυτή την εγκεφαλική περιοχή. Πιο συγκεκριμένα, η CRH θα ωθούσε τη δραστηριότητα του υπομέλανα τόπου προς το τονικό μοντέλο ενώ τα διεγερτικά αμινοξέα προς το φασικό μοντέλο. Η CRH εξασθενεί τις αισθητηριακές αποκρίσεις του LC, καθώς αφενός αυξάνει τη βασική εκφόρτιση και αφετέρου μειώνει την προκαλούμενη από ερέθισμα εκφόρτιση. Με αυτό τον τρόπο

μειώνεται ο λόγος σήματος προς θόρυβο (signal to noise ratio) της αισθητηριακής απόκρισης του υπομέλανα τόπου.

Έρευνες παρουσιάζουν ότι η CRH και το γλουταμικό εκφράζονται ταυτόχρονα τοπικά σε τελικά κομβία στον LC και συγκλίνουν σε κοινούς δενδρίτες του υπομέλανα τόπου, κάτι που υποδεικνύει την ύπαρξη πολλών πιθανών μηχανισμών αλληλεπίδρασης των δύο παραπάνω νευροδιαβιβαστών. Οι διαφορετικές δράσεις των δύο αυτών νευροδιαβιβαστών στον LC υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός μηχανισμού που βοηθά στη γρήγορη αλλαγή της δραστηριότητας του υπομέλανα τόπου, και κατ' επέκταση της συμπεριφοράς. Μια θεωρία είναι ότι η μεταγωγή των πληροφοριών στη συγκεκριμένη περιοχή μέσω γλουταμικού, ως απόκριση σε αισθητηριακά ερεθίσματα, θέτει τον υπομέλανα τόπο σε μια φασική κατάσταση, κάτι που παράγει υψηλή προσοχή και συμμετοχή σε μια συμπεριφορική λειτουργία. Αντιστρόφως, η μεταγωγή πληροφοριών στον LC μέσω CRH, ως απόκριση σε κάποιους στρεσογόνους παράγοντες, αυξάνει την τονική του δραστηριότητα, καταστέλλοντας την επιρροή του γλουταμικού. Αυτή η δράση της CRH έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της επιλεκτικής απόκρισης σε κάποιο αισθητηριακό ερέθισμα και την προώθηση της αναζήτησης εναλλακτικών συμπεριφορών.(71)

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το σύστημα υπομέλανας τόπος-νοραδρεναλίνη δεν ρυθμίζεται τονικά από την ενδογενή CRH, καθώς η χορήγηση κάποιου ανταγωνιστή του CRHR1 σε μη στρεσαρισμένους οργανισμούς δεν επηρεάζει το ρυθμό εκφόρτισης των νευρώνων της συγκεκριμένης περιοχής, ούτε τροποποιεί την απελευθέρωση νοραδρεναλίνης. Αντιθέτως, τονική έκκριση CRH στον υπομέλανα τόπο είναι εμφανής σε επίμυες που έχουν υποστεί επινεφριδεκτομή, καθώς αυτοί παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό εκφορτίσεων στον LC σε σχέση με επίμυες που δεν τους έχουν αφαιρεθεί τα επινεφρίδια. Η μετέπειτα χορήγηση ανταγωνιστών του CRHR1 υποδοχέα μετριάξει αυτές τις διαφορές, κάτι που υποδεικνύει ότι η έκκριση της CRH στον υπομέλανα τόπο περιορίζεται από τα βασικά επίπεδα των κορτικοστεροειδών. Το γεγονός αυτό έχει μεγάλη σημασία, καθώς σε περιπτώσεις όπου οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοστεροειδών υπολειπώνονται, κάτι που θεωρείται ότι συμβαίνει στην κατάθλιψη, η δραστηριότητα του υπομέλανα τόπου θα αυξάνεται τονικά.(71)

Υπάρχει σημαντικός αριθμός δεδομένων που υποστηρίζει την ενδογενή έκκριση CRH στον LC υπό συνθήκες στρες. Έτσι, το υποτασικό στρες, που ενεργοποιεί τον HPA άξονα, μιμείται την επίδραση της CRH στην τονική και φασική εκφόρτιση του υπομέλανα τόπου. Καθώς μειώνεται η πίεση του αίματος, ο ρυθμός εκφόρτισης του LC αυξάνεται, κάτι που συνδυάζεται και με την ηλεκτροεγκεφαλογραφική ενεργοποίηση του πρόσθιου εγκεφάλου και υποδεικνύει τη λειτουργική σημασία του γεγονότος αυτού. Η δραστηριότητα που προκαλείται από αισθητηριακά ερεθίσματα καταστέλλεται υπό αυτές τις συνθήκες, με πιθανό στόχο τη διατήρηση του υπομέλανα τόπου σε μια επαυξημένη τονική κατάσταση που προωθεί υψηλή διέγερση και υψηλή προσοχή στον έλεγχο του περιβάλλοντος. Αυτές οι αλλαγές παρεμποδίζονται πλήρως αν έχει προηγηθεί χορήγηση κάποιου ανταγωνιστή του CRHR1 στον LC.

Εκτός αυτού, δεδομένα δείχνουν ότι οι παράγοντες που επηρεάζουν την ευαισθησία του υπομέλανα τόπου στην CRH, επηρεάζουν με τον ίδιο τρόπο την ευαισθησία αυτής της εγκεφαλικής περιοχής στο υποτασικό στρες.(71) Συνεπώς, τα στοιχεία αυτά υποστηρίζουν την ιδέα ότι το υποτασικό στρες προκαλεί απελευθέρωση CRH στον LC για να επηρεάσει τη δραστηριότητά του και κατ'επέκταση τη νευρωνική δραστηριότητα του πρόσθιου εγκεφάλου. Άλλες, έρευνες που δε βασίζονται σε τεχνικές ηλεκτροφυσιολογίας δείχνουν, επίσης, ότι υπό συνθήκες στρες η CRH απελευθερώνεται στον υπομέλανα τόπο με στόχο την ενεργοποίηση του συστήματος υπομέλανα τόπος- αδρενεργικό. Για παράδειγμα, μικροέγχυση ανταγωνιστή του CRHR1 υποδοχέα στον LC εμποδίζει διάφορες δράσεις του στρες όπως την αύξηση της έκφρασης της τυροσινικής υδροξυλάσης στους νευρώνες της περιοχής αυτής, καθώς και την αύξηση των εξωκυττάρων επιπέδων της φλοιικής νοραδρεναλίνης. Μια άλλη επιρροή της CRH στους νευρώνες του υπομέλανα τόπου είναι η ενδοκυττάρωση του υποδοχέα της CRH. Μικροέγχυση CRH στον LC σε ποσότητες που αυξάνουν τον ρυθμό εκφόρτισης των νευρώνων του, προκαλεί ταυτόχρονα και μιας μεγάλης διάρκειας ενδοκυττάρωσης του CRHR1 στους δενδρίτες του υπομέλανα τόπου.(71)

Η ευαισθησία των νευρώνων του υπομέλανα τόπου στη CRH δεν είναι στατική και μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ότι στους αρσενικούς επίμυες με ιστορικό στρες η μέγιστη

απόκριση του LC στη δράση της CRH είναι μικρότερη του φυσιολογικού. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην ενδοκυττάρωση του υποδοχέα της. Η ευαισθησία του υπομέλανα τόπου σε χαμηλές δόσεις CRH λόγω στρες έχει μεγάλο αντίκτυπο, καθώς επίπεδα CRH που υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν θα είχαν κάποια επίδραση σε αυτή την εγκεφαλική περιοχή, ενεργοποιούν το νοραδρενεργικό σύστημα του εγκεφάλου και προκαλούν εγρήγορση. Ένας από τους παράγοντες που οδηγούν στην ευαισθητοποίηση του LC είναι η χρόνια χρήση οπιοειδών, κάτι που επηρεάζει και τη συμπεριφορά. Το βιολογικό φύλο έχει επίσης σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ευαισθησίας του υπομέλανα τόπου στη CRH. Ανεξαρτήτως των ορμονικών διαφορών των δύο φύλων, ο LC των θηλυκών επίμυων είναι πιο ευαίσθητος στην CRH.(71) Εκτός αυτού, η πρότερη έκθεση αρσενικών επίμυων στο στρες επηρεάζει την ευαισθησία του υπομέλανα τόπου, ενώ στα θηλυκά δεν φαίνεται να έχει κάποια επιρροή. Αυτές οι διαφορές στη ρύθμιση της ευαισθησίας του LC στη CRH που βασίζονται στο φύλο προωθούν τη θεωρία ότι υπάρχουν φυλετικές διαφορές στη δομή του CRHR1 ή στον τρόπο μεταγωγής σήματος. Το συγκεκριμένο γεγονός μπορεί να δικαιολογήσει τη διαφορετική ευαισθησία που παρουσιάζουν τα δύο φύλα στο στρες.(71)

Εκτός της επιρροής της στη φυσιολογία του υπομέλανα τρόπου, κάτι που προκαλεί βραχυπρόθεσμες προσαρμοστικές αλλαγές, η CRH επηρεάζει και τη δομή των δενδριτών του. Η δράση αυτή της CRH μπορεί να έχει μακροπρόθεσμη επιρροή στον LC. Η έκθεση δείγματος ιστού του υπομέλανα τόπου σε CRH αυξάνει το δενδριτικό μήκος σε περιοχές γύρω από τον LC. Αυτή η δράση γίνεται μέσω των CRHR1 υποδοχέων και περιλαμβάνει την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA) και μιας πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από μιτογόνα (MAPK). Πιο συγκεκριμένα, οι Rho GTPάσες που ρυθμίζουν τη δενδριτική αύξηση αναγνωρίζονται ως μόρια που συνδέουν τη μεταγωγή σήματος μετά από ενεργοποίηση του CRHR1 με κυτταροσκελετικές μεταβολές. Επειδή μερικές προβολές καταλήγουν στον πυρήνα του υπομέλανα τόπου, ενώ άλλες καταλήγουν στις περιοχές γύρω από αυτόν, η έκταση που καταλαμβάνουν οι δενδρίτες εκτός του κεντρικού τμήματος του LC καθορίζουν ποιες εκ των προβολών θα έχουν μεγαλύτερη επίδραση στο νοραδρενεργικό σύστημα του εγκεφάλου. Η δενδριτική επέκταση στην περιοχή γύρω από τον LC, ίσως, αυξάνει την πιθανότητα

επικοινωνίας με προβολές του μεταιχμιακού συστήματος που αναμεταδίδουν πληροφορίες συναισθηματικής μορφής στον υπομέλανα τόπο. Συνεπώς μια θεωρία είναι ότι ελέγχοντας την επέκταση των δενδριτών του LCγύρω από αυτόν, η CRH ρυθμίζει τα επίπεδα της συναισθηματικής διέγερσης.(71)

Αλληλεπίδραση της CRH με τη γοναδοεκλυτίνη (GnRH) και ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών

Πέραν της ενεργοποίησης του HPA άξονα, το στρες επηρεάζει και άλλες ορμόνες του υποθαλάμου. Η πλειοψηφία των ερευνών εστιάζει στην επίδραση του στρες στον άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Γονάδες/Hypothalamic-Pituitary-Gonadal (HPG) axis.(72) Οι ορμόνες που διεγείρουν τις γονάδες ονομάζονται γοναδοτροπίνες. Έχει δειχθεί ότι ένας μεγάλος αριθμός στρεσογόνων παραγόντων μπορεί να καταστείλει τη γοναδική λειτουργία. Στα σπονδυλωτά, οι πρωτεΐνες που έχουν κύριο ρόλο στην αναπαραγωγή είναι η γοναδοεκλυτίνη/Gonadotropin-releasing hormone (GnRH), η cis-πεπτίνη και οι υποδοχείς τους. Η κύρια λειτουργία της GnRH είναι η διέγερση της υπόφυσης με τελικό αποτέλεσμα την έκκριση των γοναδοτροπινών LH και FSH.(73) Η cis-πεπτίνη διεγείρει την απελευθέρωση GnRH από υποθαλαμικούς νευρώνες που εκφράζουν τη γοναδοεκλυτίνη. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω των υποδοχέων Gpr54, οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία των υποδοχέων που είναι συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνη. Αντιθέτως, μια κατηγορία στεροειδών ορμονών των γονάδων, τα οιστρογόνα, καταστέλλουν την έκκριση της GnRH. Αυτό γίνεται μέσω της δράσης τους πάνω στους νευρώνες του τοξοειδή πυρήνα που εκφράζουν cis-πεπτίνη. Μια άλλη ορμόνη που μπορεί να επηρεάσει την αναπαραγωγή στα σπονδυλωτά είναι το νευροπεπτίδιο GnIH (Gonadotropin-inhibitory hormone), ένα RFRP(RFamide-related peptide).(72) Οι νευρώνες που εκφράζουν GnIH αλληλεπιδρούν άμεσα με τους νευρώνες που εκφράζουν GnRH. Η δράση της GnIH τελείται μέσω ενός υποδοχέα συνδεδεμένου με G-πρωτεΐνη, του Gpr147. Στα ποντίκια, οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ουσιών συγγενικών της GnIH εμφανίζονται στον υποθάλαμο, ενώ η GnIH μειώνει την έκκριση GnRH από τον υποθάλαμο των ποντικιών. Οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών και οι υποδοχείς της CRH εκφράζονται σε ένα μεγάλο αριθμό κυττάρων που εκφράζουν GnIH/RFRPs.

Οι αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης του CRHR1 υποδοχέα και η απευαισθητοποίησή του στα κορτικοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης έχουν σημαντικό ρόλο στην απόκριση στο στρες. Πάντως, εκτός του CRHR1, έρευνες δείχνουν ότι στην πρόσθια υπόφυση εκφράζεται CRHR2 mRNA, με τον υποδοχέα αυτόν να εντοπίζεται κυρίως σε γοναδοτρόφα κύτταρα παρά σε κορτικοτρόφα.(72) Υπάρχουν τρεις λειτουργικές ισομορφές του CRHR2, οι οποίες διαφέρουν στην αμινοτελική περιοχή που περιλαμβάνει ένα κρίσιμο για τη σηματοδότηση πεπτίδιο και μέρος της εξωκυττάριας περιοχής του μορίου. Οι ισομορφές αυτές είναι ο CRHR2_α, ο CRHR2_β και ο CRHR2_γ. Ο κύριος τύπος υποδοχέα που παρουσιάζει η πρόσθια υπόφυση είναι ο CRHR2_α. Ο CRHR2_α υποδοχέας του αρουραίου συσχετίζεται με διάφορες εγκεφαλικές λειτουργίες, και εκφράζεται, κυρίως, σε διακριτές εγκεφαλικές περιοχές, όπως ο υποθάλαμος, το πλάγιο διάφραγμα και οι πυρήνες ραφής. Ο CRHR2_β εκφράζεται, κυρίως, σε περιφερικούς ιστούς όπως η καρδιά και οι μυς. Ο CRHR2_γ, έως τώρα, έχει εντοπιστεί μόνο σε ανθρώπινες μεταιχμιακές δομές.(74) Τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι ο υποδοχέας CRHR2_α στα γοναδοτρόφα της υπόφυσης συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών ή εν γένει τη λειτουργία των γονάδων. Συνεπώς, η ενεργοποίηση του συστήματος του στρες μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία του HPG άξονα. Το στρες οδηγεί σε μείωση της έκκρισης των LH, FSH και κατ'επέκταση σε μείωση της παραγωγής των στεροειδών του φύλου και της σπερματογένεσης. Η CRH που εκκρίνεται ως απόκριση στο στρες έχει τη δυνατότητα διέγερσης της έκφρασης και έκκρισης της Ucn2 από τα κορτικοτρόφα της υπόφυσης ενός αρουραίου. Ενώ, η έκφραση και έκκριση της Ucn2 καταστέλλεται από τα γλυκοκορτικοειδή. Η Ucn2 είναι επιλεκτικός συνδέτης του CRHR2 και μπορεί, διαμέσου του συγκεκριμένου υποδοχέα, να καταστείλει την έκφραση και έκκριση γοναδοτροπινών στους επίμυες. Αντιθέτως, η χρήση κάποιου ανταγωνιστή του συγκεκριμένου υποδοχέα αυξάνει την έκκριση των γοναδοτροπινών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι ένα anti-CRH αντίσωμα καταστέλλει την αύξηση της έκκρισης ACTH και κορτικοστερόνης ενώ, ένα anti-Ucn2 αντίσωμα σταματά την καταστολή έκκρισης της LH που προκαλείται από το στρες, χωρίς να επηρεάσει τα επίπεδα ACTH και γλυκοκορτικοειδών. Έτσι, μια θεωρία που δημιουργείται είναι ότι το στρες οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων της CRH, η ορμόνη αυτή διεγείρει την έκκριση της Ucn2,

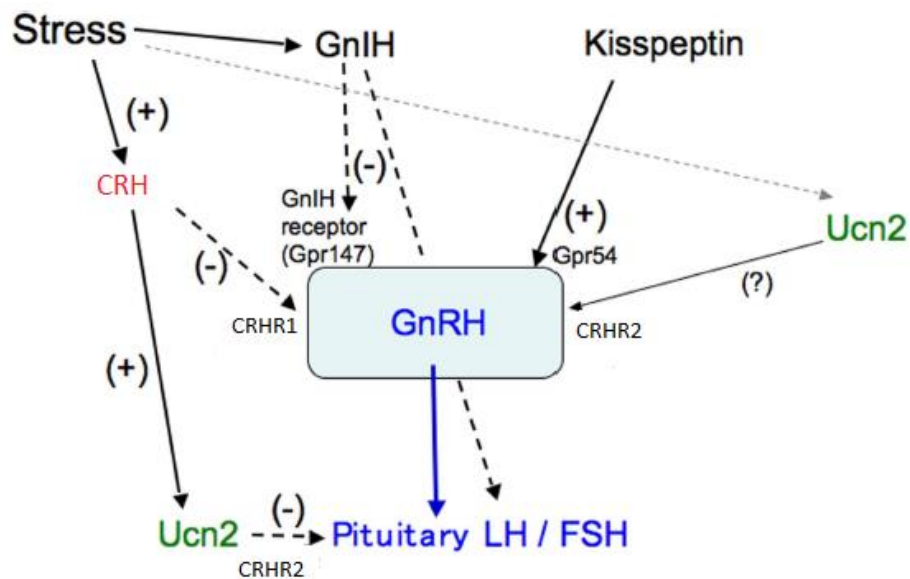
η οποία με τη σειρά της καταστέλλει την έκκριση γοναδοτροπινών διαμέσου του CRHR2 υποδοχέα.(72)

Αντίθετα από την κεντρική χορήγησή της, η περιφερική χορήγηση CRH δεν έχει κάποια επίδραση στην έκκριση της LH. (72) Η επιρροή αυτή της CRH υποδεικνύει την ύπαρξη ενός κεντρικού μηχανισμού ελέγχου της δραστηριότητας των GnRH νευρώνων στον υποθάλαμο. Επιπλέον, *in vivo* έρευνες σε επίμυες δείχνουν ότι η CRH εννεύρωση του οπισθοπλάγιου BNST έχει κεντρικό ρόλο στην καταστολή μετά από στρεσογόνο ερέθισμα της απελευθέρωσης GnRH κατά ώσεις . Η CRH μειώνει τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου της GnRH σε κυτταροκαλλιέργεια κυττάρων επίμυων GT1-7. Μια άλλη κατηγορία νευρικών κυττάρων που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της επίδρασης της CRH, συγκεκριμένα στον υποθάλαμο, είναι τα N39. Τα N39 εκφράζουν CRHR1 mRNA και πρωτεΐνη καθώς και CRHR2 mRNA και πρωτεΐνη. Σε αυτά τα κύτταρα έχει δειχθεί ότι ανταγωνιστές του CRHR1, όπως η ανταλαρμίνη, καταστέλλουν τη μείωση των επιπέδων mRNA της GnRH που προκαλείται ως απόκριση στη CRH. Αυτό υποδεικνύει ότι η CRH μειώνει τα επίπεδα mRNA της GnRH μέσω του υποδοχέα CRHR1.(72) Εικάζεται ότι ο CRHR2 υποδοχέας επίσης συμμετέχει στη ρύθμιση του γονιδίου της GnRH. Σε κύτταρα GT1-7 η CRH επιδρά στα επίπεδα mRNA της GnRH μέσω του υποδοχέα CRHR2. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι στα κύτταρα N39, η Ucn2 φαίνεται να αυξάνει τα επίπεδα mRNA της GnRH, δραστηριότητα που καταστέλλεται από τον ανταγωνιστή του CRHR2, την antisauvagine-30. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι στα κύτταρα του υποθαλάμου η Ucn2 αυξάνει το GnRH mRNA μέσω του CRHR2 υποδοχέα. Μια *in vivo* μελέτη σε θηλυκούς επίμυες καταγράφει ότι σε περιπτώσεις υπογλυκαιμίας καταστέλλεται η έκκριση LH μέσω ενεργοποίησης του υποδοχέα CRHR2, ενώ το στρες περιορισμού καταστέλλει τις ώσεις LH μέσω ενεργοποίησης και των δύο μορφών υποδοχέων της CRH. Αντίθετα, μια άλλη *in vivo* μελέτη σε επίμυες δείχνει ότι ένας ανταγωνιστής του CRHR1 διακόπτει την αύξηση της έκκρισης των γοναδοτροπινών στον προοίστρο ως απόκριση σε οξύ στρες, ενώ, χρήση ανταγωνιστή του CRHR2 παρεμποδίζει μερικώς την αύξηση της έκκρισης της FSH.(72) Η παραγωγή και η έκκριση της GnRH είναι πολύ πιθανό να εξαρτάται από τον υποδοχέα που ενεργοποιείται αλλά και από το είδος του στρεσογόνου παράγοντα στον οποίο εκτίθεται ο εκάστοτε οργανισμός.

Φυλετικός διμορφισμός παρατηρείται και στην απόκριση στο στρες του άξονα HPG. Οι άξονες HPA και HPG αλληλεπιδρούν. Τα οιστρογόνα έχουν σημαντικό ρόλο στο φυλετικό διμορφισμό και συμμετέχουν στην απόκριση στο στρες και ρυθμίζουν την ενεργοποίηση του HPA άξονα. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι τα θηλυκά άτομα εμφανίζουν μια ελαφρά υπερκορτιζολαιμία, κάτι που δεν παρατηρείται στα αρσενικά.(72) Ένα παράδειγμα της σημαντικής επιρροής των οιστρογόνων στο σύστημα απόκρισης του στρες είναι ότι η αναπλήρωσή τους σε επίμυες που έχουν αφαιρεθεί οι ωοθήκες ή σε γυναίκες που έχουν περάσει την εμμηνόπαυση αυξάνει τα βασικά επίπεδα της ACTH. Έρευνες δείχνουν ότι τα οιστρογόνα δρουν κεντρικά, συμπεριλαμβανομένων των κορτικοτρόφων κυττάρων και του υποθαλάμου, και έχουν άμεση επίδραση στην έκφραση του γονιδίου της CRH σε διάφορους ιστούς.(72) Τα υψηλά επίπεδα αναπλήρωσης των οιστρογόνων σε επίμυες που τους έχουν αφαιρεθεί οι ωοθήκες επηρεάζουν τις βασικές συγκεντρώσεις του CRH mRNA στον PVN. Συνεπώς, θεωρητικά, σε συνθήκες *in vivo*, τα οιστρογόνα ρυθμίζουν τον HPA άξονα μέσω της διέγερσης της έκφρασης του γονιδίου της CRH στον υποθάλαμο. Η χορήγηση οιστρογόνων δεν επηρεάζει τα επίπεδα του CRH mRNA σε αρσενικά ποντίκια αγρίου τύπου ή σε knockout για τον υποδοχέα οιστρογόνων τύπου β ποντίκια (ERβ knockout mice) που τους έχουν αφαιρεθεί οι γονάδες. Οπότε είναι πιθανό η δράση των οιστρογόνων στο γονίδιο της CRH να διαφέρει ανάλογα με το φύλο.

Ένα ενδιαφέρον πειραματικό μοντέλο είναι τα κύτταρα 4B του υποθαλάμου. Η συγκεκριμένη κατηγορία κυττάρων παρουσιάζει αρκετά κοινά χαρακτηριστικά με τους νευρώνες του PVN, μια και αυτά εκφράζουν CRH, βαζοπρεσίνη, τον υποδοχέα CRHR1, καθώς και υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών. Τα οιστρογόνα διεγείρουν ευθέως την έκφραση του γονιδίου της CRH στα κύτταρα 4B του υποθαλάμου. Αυτό υποδεικνύει ότι, σε *in vitro* συνθήκες, τα οιστρογόνα συμμετέχουν στη θετική ρύθμιση του γονιδίου της CRH στη μικροκυτταρική περιοχή του PVN. Νευρώνες που εκφράζουν και τη CRH και τον υποδοχέα ERβ βρίσκονται στην έσω μικροκυτταρική υποδιαίρεση και προβάλλουν στην μέση προεξοχή, με τη CRH στους μικροκυτταρικούς νευρώνες του PVN να επηρεάζει την έκκριση ACTH από κορτικοτρόφα κύτταρα. Το γεγονός αυτό υποστηρίζει την υπόθεση ότι τα οιστρογόνα μέσω του υποδοχέα ERβ συμμετέχουν στην ενίσχυση της απόκρισης του

στρες μέσω διέγερσης των CRH νευρώνων του υποθαλάμου, αποτελώντας έτσι τη βάση του φυλετικού διμορφισμού που παρατηρείται στη ρύθμιση του γονιδίου της CRH.(72) Επιπροσθέτως, τα οιστρογόνα ενισχύουν την καταστολή της έκκρισης LH σε ώσεις που οφείλεται στην επίδραση της CRH ή του στρες. Η αυξορύθμιση του CRHR2 μπορεί, επίσης, να βοηθά στην επίδραση της οιστραδιόλης στην καταστολή που προκαλούν η CRH και το στρες στο βηματοδότη της απελευθέρωσης GnRH κατά ώσεις.



Εικόνα 15: Σχηματικό μοντέλο της ρύθμισης της GnRH από τη CRH και την Ucn.(72)

CRH και παθολογικές καταστάσεις

Η CRH είναι η κύρια ρυθμιστική ορμόνη του HPA άξονα, ενώ αποτελεί και κύριο νευροδιαβιβαστή σε έναν μεγάλο αριθμό εγκεφαλικών περιοχών. Η ίδια προωθεί μεταβολικές, νευροενδοκρινικές και αυτόνομες προσαρμογές που είναι απαραίτητες για την απόκριση του οργανισμού στο οξύ στρες. Η συγκεκριμένη ορμόνη, όμως, μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές σωματικές και ψυχολογικές καταστάσεις σε περιπτώσεις χρόνιου στρες.

Σύγχρονες έρευνες συνδέουν τη CRH με σημαντικό αριθμό ψυχιατρικών παθήσεων. Η μείζων καταθλιπτική διαταραχή (Major Depressive Disorder) είναι αρκετά διαδεδομένη και περισσότερο από το 10% του πληθυσμού θα την αντιμετωπίσει μια τουλάχιστον φορά στη διάρκεια της ζωής του.(75) Η ίδια

εμφανίζεται περισσότερο στις γυναίκες παρά στους άνδρες, με την αναλογία να είναι 2:1. Η MDD χαρακτηρίζεται από πολλά και διαφορετικής φύσεως συμπτώματα. Μερικά από αυτά είναι η συναισθηματική δυσλειτουργία, τα γνωσιακά προβλήματα και διαταραχές σε κύρια βιολογικά συστήματα, όπως αυτά του ύπνου, της διατροφής και της αναπαραγωγής. Εκτός αυτού, η διαταραχή αυτή συνδέεται με μεταβολικές αλλαγές που μπορούν να προκαλέσουν σωματικές δυσλειτουργίες όπως οστεοπόρωση και προβλήματα του καρδιαγγειακού. Τα παραπάνω οδηγούν σε αυξημένη νοσηρότητα όσο και θνησιμότητα. Οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της MDD περιλαμβάνουν το οξύ στρες, το χρόνια στρες, τις οξείες εμπειρίες απώλειας καθώς και αρνητικές πρώιμες εμπειρίες.

Οι περισσότερες έρευνες πάνω στην μείζων καταθλιπτική διαταραχή εντοπίζουν υπερέκκριση κορτιζόλης, η οποία καταγράφεται ως αυξημένα επίπεδα κορτικοστεροειδών στο πλάσμα και αυξημένα επίπεδα μεταβολιτών της κορτιζόλης.(75) Τα επίπεδα κορτιζόλης στη MDD δεν είναι υψηλά όλες τις μέρες και ,συχνά, εναλλάσσονται μεταξύ φυσιολογικών και υψηλών τιμών σε διάφορες στιγμές της ίδιας μέρας. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι τα άτομα που πάσχουν από αυτή τη διαταραχή, σε αντίθεση με μια νόσο σαν την Cushing's, έχουν φυσιολογικό αρνητικό μηχανισμό ανατροφοδότησης στην υπόφυση παρά στον υποθάλαμο. Με βάση το μηχανισμό αυτό, καθώς η συγκέντρωση της κορτιζόλης αυξάνεται στο πλάσμα, τα επίπεδα της ACTH στο πλάσμα μειώνονται, προκαλώντας με τη σειρά τους μείωση της κορτιζόλης στο πλάσμα και οδηγώντας σε μικρότερη αρνητική ανατροφοδότηση στην υπόφυση, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της ACTH ξανά. Η αυξημένη έκκριση κορτιζόλης στους ασθενείς με MDD συσχετίζεται με την αυξημένη κεντρική τροφοδοσία CRH. Πολλαπλές έρευνες δείχνουν ότι ασθενείς που δεν έχουν ακολουθήσει κάποια θεραπευτική αγωγή έχουν υψηλές συγκεντρώσεις της ορμόνης αυτής στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Μελέτη postmortem σε εγκεφαλικούς ιστούς ατόμων που αυτοκτόνησαν δείχνουν μειωμένο αριθμό CRHRs στον πρόσθιο φλοιό, ενώ μια παραπλήσια μελέτη καταγράφει διαφοροποίηση της αναλογίας των δύο υποδοχέων της CRH στην υπόφυση.(75)

Η υπερέκκριση αυτής δεν εντοπίζεται μόνο στον HPA άξονα, αλλά και σε κάθε εγκεφαλική περιοχή στην οποία η CRH έχει λειτουργία νευροδιαβιβαστή. Μελέτη postmortem σε εγκεφάλους ανδρών που αυτοκτόνησαν και σύγκρισή τους

με εγκεφάλους ανδρών ομάδας ελέγχου καταγράφει ότι άτομα με MDD έχουν αυξημένη CRH κατά 30% στον υπομέλανα τόπο, κατά 39% στον μέσο πυρήνα της ραφής, και κατά 45% στον οπίσθιο ραχιαίο πυρήνα της ραφής σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Φαίνεται ότι τα επίπεδα της CRH ατόμων που έπασχαν από μείζων καταθλιπτική διαταραχή και αυτοκτόνησαν είναι αυξημένα σε γεφυρικούς πυρήνες που περιέχουν σεροτονίνη και νοραδρεναλίνη. Το γεγονός αυτό ενισχύει την υπόθεση ότι η λειτουργία της CRH σε εξωυποθαλαμικές περιοχές του εγκεφάλου ως νευροδιαβιβαστής/νευροτροποποιητής είναι αυξημένη σε καταθλιπτικά άτομα. Η επίδραση της ορμόνης στον υπομέλανα τόπο και στους πυρήνες της ραφής μπορεί να αποτελέσει σημείο σύνδεσης μεταξύ της υπερέκκρισης της ίδιας και τις διαταραχές στο νοραδρενεργικό και σεροτονινικό σύστημα που αποτελούν χαρακτηριστικά της παθοφυσιολογίας της MDD.(75)

Μια ψυχοπαθολογική κατάσταση που έχει συνδεθεί με το στρες είναι και η δυσθυμία. Η δυσθυμία χαρακτηρίζεται από μια μεγάλης διάρκειας περίοδο, τουλάχιστον 2 ετών, με αδιάλειπτα καταθλιπτικά συμπτώματα, τα οποία όμως δεν πληρούν τις προϋποθέσεις για την κατηγοριοποίηση ως MDD. Πάραυτα τα συμπτώματα αυτά δημιουργούν προβλήματα στην καθημερινή ζωή των ασθενών. Οι μελέτες πάνω στη δράση του HPA άξονα και της CRH στη δυσθυμία είναι πολύ λίγες. Έρευνα πάνω σε 10 ασθενείς με δυσθυμία και 36 ασθενείς με μείζων καταθλιπτική διαταραχή βρήκε ότι και οι δύο ομάδες είχαν αυξημένες συγκεντρώσεις CRH και κορτιζόλης.(75)

Η άτυπη κατάθλιψη χαρακτηρίζεται από αναστροφή των σωματικών συμπτωμάτων που παρατηρούνται στη μελαγχολική MDD. Συμπτώματα της άτυπης κατάθλιψης είναι η υπερυπνία, η υπεραλγησία, ο λήθαργος, η κόπωση και η σχετική απάθεια. Η εποχιακή κατάθλιψη είναι μια μορφής κατάθλιψη που σχετίζεται με συγκεκριμένη περίοδο του έτους και μοιάζει κλινικά στην άτυπη κατάθλιψη. Μια και τα σωματικά συμπτώματα της μελαγχολικής κατάθλιψης μπορούν να αποδοθούν στην μεγάλη έκκριση CRH, υπάρχει η εικασία ότι τα συμπτώματα της άτυπης κατάθλιψης οφείλονται την υπολειτουργία του συστήματος της CRH. Οι έρευνες που έχουν γίνει αφορούν μικρό δείγμα. Αυτές βρίσκουν ότι οι ασθενείς με άτυπη κατάθλιψη δείχνουν μειωμένα επίπεδα CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, μειωμένα επίπεδα ACTH και φυσιολογικά επίπεδα κορτιζόλης.

Η διαταραχή μετατραυματικού στρες (PTSD) είναι ένα σύνδρομο που η ανάπτυξή του είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την εμπειρία κάποιου οξέος τραύματος. Επειδή η CRH είναι από τους κύριους ρυθμιστές της οργανικής απόκρισης του στρες στον εγκέφαλο, θεωρείται ότι τα άτομα με PTSD θα έχουν υψηλά επίπεδα CRH στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Πράγματι μετρήσεις σε ασθενείς που έχουν χρόνια PTSD που δημιουργήθηκε από εμπειρίες που είχαν σε εμπόλεμες ζώνες καταγράφουν ότι τα επίπεδα της CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι αυξημένα.(76) Παρότι τα κλινικά δεδομένα για το PTSD παρουσιάζουν υπερλειτουργία του συστήματος CRH στο ΚΝΣ, η αναμενόμενη ενεργοποίηση του περιφερικού τμήματος του συστήματος του στρες εμφανίζει ελλείψεις. Για παράδειγμα άτομα με PTSD εμφανίζουν χαμηλά ή φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα. Ακόμα και η βασική έκκριση κορτιζόλης σε άτομα με PTSD είναι δυσανάλογα χαμηλή αν ληφθούν υπ' όψιν ότι το ΚΝΣ παρουσιάζει υψηλότερη δραστηριότητα και επίσης παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα CRH και νοραδρεναλίνης. Οι ασθενείς με διαταραχή μετατραυματικού στρες εμφανίζουν υψηλές συγκεντρώσεις CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ενώ ταυτόχρονα τα επίπεδα της περιφερικής κορτιζόλης είναι φυσιολογικά ή χαμηλά. Το γεγονός αυτό οδηγεί στη θεωρία ότι ασθενείς με PTSD έχουν ανεπαρκή λειτουργία του φλοιού των επινεφριδίων.(76) Τα δεδομένα πάνω στη PTSD δείχνουν ένα μοναδικό μοντέλο το οποίο, προς το παρόν, διαφέρει από τις υπόλοιπες ψυχιατρικές παθήσεις. Το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης χαρακτηρίζεται από επίμονη και υποτροπιάζουσα εξουθενωτική κόπωση για τουλάχιστον 6 μήνες με απουσία κάποιας διάγνωσης που να αιτιολογεί αυτή την κλινική εικόνα. Η εικόνα αυτή έχει πολλά κοινά με αυτήν της άτυπης κατάθλιψης. Νευροενδοκρινολογικές μελέτες προτείνουν ότι το συγκεκριμένο σύνδρομο οφείλεται, όπως και η άτυπη κατάθλιψη, σε υπολειτουργία του συστήματος της CRH.(75)

Διαταραχές συνδεδεμένες με το στρες είναι και οι διατροφικές διαταραχές. Τα κύρια ευρήματα σε διαταραχές όπως η νευρική ανορεξία (Anorexia Nervosa) είναι η υπερκορτιζολαιμία, τα αυξημένα επίπεδα CRH στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τα φυσιολογικά επίπεδα ACTH στην κυκλοφορία. Τα υψηλά επίπεδα κορτιζόλης στη νευρική ανορεξία θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα συνδυασμού της υψηλής παραγωγής κορτιζόλης και της μείωσης του μεταβολισμού της. Τα υψηλά επίπεδα

κορτιζόλης δεν οδηγούν σε μείωση της παραγωγής CRH, αντιθέτως παρατηρείται αύξηση της CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Πιθανώς, κάτι τέτοιο να οφείλεται σε κεντρική αυξημένη απελευθέρωση CRH στο ΚΝΣ. Η μη λειτουργία του μηχανισμού αρνητικής ανατροφοδότησης προκαλείται, ίσως, από μείωση της ευαισθησίας των GR υποδοχέων. Πάντως, τα ευρήματα στη νευρική ανορεξία δείχνουν πολλές ομοιότητες με αυτά της μείζονος καταθλιπτικής διαταραχής. Δεν είναι γνωστό αν κάτι τέτοιο παρατηρείται λόγω της υψηλής συχνότητας συννοσηρότητας που παρουσιάζουν αυτές οι δύο διαταραχές. Ίσως αυτό το μοτίβο δυσλειτουργίας του HPA άξονα να οδηγεί σε MDD, AN ή και τα δύο ανάλογα με άγνωστους, προς το παρόν, γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.(75) Πέραν αυτών, η κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται να επηρεάζει την επίδραση του στρες σε έναν οργανισμό και το αντίστροφο.

Η προσαρμογή του ΚΝΣ στη χρόνια δράση του αλκοόλ επηρεάζει διάφορα βιολογικά συστήματα, ένα εκ των οποίων είναι ο HPA άξονας. Μελέτες πάνω σε ζώα δείχνουν ότι η απόκριση του HPA στην οξεία και τη χρόνια έκθεσή του στο αλκοόλ είναι πολύ διαφορετικές. Στους επίμυες, η οξεία έκθεση στο αλκοόλ αυξάνει την έκκριση κορτιζόλης. Ενδιαφέρον, όμως, είναι ότι επίμυες που υποβάλλονται σε εξάμηνη αγωγή με αιθανόλη παρουσιάζουν μικρότερο συνολικό αριθμό CRH και AVP νευρώνων με ταυτόχρονα αρκετά μειωμένα επίπεδα CRH mRNA. Επίμυες που σταμάτησαν την αγωγή στη συνέχεια εμφάνισαν μεγαλύτερο αριθμό CRH και AVP νευρώνων και μεγαλύτερη έκφραση του γονιδίου της CRH σε σχέση με επίμυες που ακολουθούσαν την αγωγή, ενώ δεν εμφάνιζαν σημαντικές διαφορές από την ομάδα ελέγχου. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι η μεγάλης διάρκειας κατανάλωση αλκοόλ εξασθενεί την έκφραση CRH και AVP στους μικροκυτταρικούς νευρώνες του PVN και ότι η δράση αυτή είναι αναστρέψιμη με τη διακοπή της κατανάλωσής του.

Πάντως, η επιρροή της χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ στον άξονα HPA είναι περίπλοκη, τουλάχιστον στους ανθρώπους. Η έκκριση κορτιζόλης που οφείλεται στη διέγερση από CRH είναι μικρότερη στους εν ενεργεία αλκοολικούς, αυξημένη κατά τη διακοπή της χρήσης αλκοόλ και φυσιολογική ή μειωμένη στις πρώτες μέρες αποχής από αυτό. Κατά τη διάρκεια της διακοπής της χρήσης, οι ασθενείς εμφανίζουν προβλήματα στη ρύθμιση του HPA άξονα με αυξημένα επίπεδα απόκρισης της κορτιζόλης και της ACTH στη CRH μετά από χορήγηση

δεξαμεθαζόνης.(75) Μετά από το πέρας της διακοπής της χρήσης αλκοόλ, τα επίπεδα κορτιζόλης μετά από χορήγηση CRH είναι, σχεδόν, φυσιολογικές, ενώ οι τιμές της ACTH είναι σχετικά μικρότερες από αυτές που παρουσιάζει η ομάδα ελέγχου. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι το σύστημα του HPA άξονα εμφανίζει αρκετά προβλήματα κατά τη διακοπή της κατανάλωσης αλκοόλ, κάτι που, ίσως, οφείλεται σε οξεία απελευθέρωση CRH και AVP.

Όσον αφορά την υποτροπή στην κατανάλωση αλκοόλ υπάρχουν τρεις παράγοντες που μπορούν να την προκαλέσουν σε άτομα που έκαναν χρόνια χρήση αλκοόλ και αυτοί είναι συγκεκριμένα μικρές δόσεις αλκοόλ που δρουν ως έναυσμα για εκ νέου κατανάλωση, ερεθίσματα που είχαν συσχετισθεί με την πρότερη πρόσβαση στο αλκοόλ και το στρες.(77) Το μοντέλο της υποτροπής στα πειραματόζωα μπορεί να χρησιμοποιήσει οποιονδήποτε από τους τρεις παράγοντες που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Τόσο ο μη ειδικός ανταγωνιστής του CRHR1 υποδοχέα D-PheCRH₁₂₋₄₁ όσο και ο ειδικός ανταγωνιστής CP-154 526 κατέστειλαν την υποτροπή λόγω στρες. Γενικά, στα πειραματόζωα μετά τη διακοπή της κατανάλωσης αλκοόλ μπορεί να παρεμποδιστεί η υποτροπή λόγω στρες με χρήση ανταγωνιστών του υποδοχέα CRHR1. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι ο συγκεκριμένος υποδοχέας συμμετέχει στην υποτροπή χρήσης αλκοόλ που οφείλεται στο στρες. Όπως και με άλλες συμπεριφορικές διαδικασίες που ρυθμίζονται από τη CRH, η επινεφριδεκτομή δεν έχει κάποια επιρροή στην υποτροπή λόγω στρες χρήσης αλκοόλ, δηλώνοντας ότι στο μηχανισμό αυτό συμμετέχουν εξωϋποθαλαμικά συστήματα της ορμόνης αυτής.(77)

Ο συγκεκριμένος μηχανισμός με τον οποίο η CRH συμμετέχει στην υποτροπή σε χρήση αλκοόλ δεν είναι γνωστός. Ένας παραλληλισμός που μπορεί να γίνει είναι η υποτροπή στη χρήση κοκαΐνης λόγω στρες. Εκεί ο μηχανισμός βασίζεται στο γεγονός ότι η CRH ελέγχει την απελευθέρωση ντοπαμίνης στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (VTA), κάτι που ρυθμίζεται από τη αύξηση της απελευθέρωσης γλουταμικού. Πάντως, θεωρείται ότι το μονοπάτι της CRH που ακολουθείται σε περιπτώσεις εθισμού σε κάποια ουσία, διαφέρει ανάλογα με την ουσία που μελετάται, οπότε κάτι τέτοιο μπορεί να ισχύει και στον εθισμό στο αλκοόλ. Εκτός αυτού, πιθανόν, υπάρχουν πολλά μονοπάτια που συνεργούν στη ρύθμιση διαφορετικών συμπεριφορών που σχετίζονται με τον εθισμό στο αλκοόλ.(77)

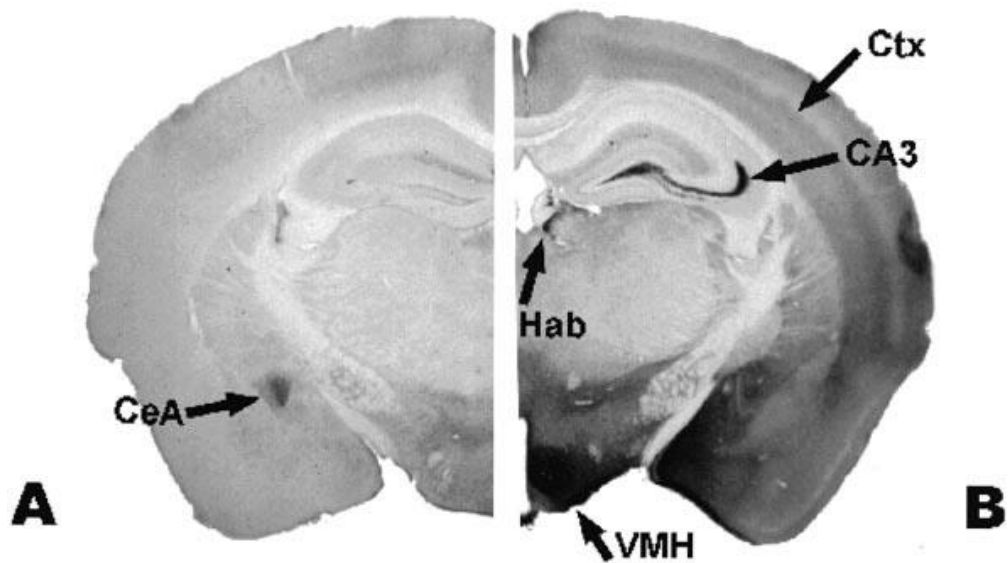
Σε άλλες ψυχιατρικές ασθένειες οι έρευνες για την επιρροή της CRH είναι σχετικά λίγες. Στη διαταραχή πανικού καταγράφεται μια εξασθενημένη απόκριση στη διέγερση από τη CRH και κάποιες μελέτες προτείνουν αυξημένη έκκριση κορτιζόλης ως απόκριση στο στρες. Στην ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή, στη γενική αγχώδη διαταραχή και στη σχιζοφρένεια δεν έχουν παρατηρηθεί ξεκάθαρες ανωμαλίες στον HPA άξονα. Τα άτομα που πάσχουν από τη νόσο Alzheimer παρουσιάζουν μείωση στη CRH του εγκεφαλονωτιαίου υγρού, παρότι ασθενείς με άνοια έχουν αυξημένα επίπεδα CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.(75)

Disorder	HPA axis related findings
Major depression	elevated plasma cortisol elevated plasma levels of cortisol metabolites elevated 24-hour urinary free cortisol enlarged adrenal glands diminished hippocampal volume elevated CRH in plasma and CSF reduction in the number of CRH receptor binding sites elevated CRH in norepinephrine- and serotonin-containing pontine nuclei blunted ACTH response to CRH administration impaired suppression of cortisol secretion after DEX administration (DST test) enhanced ACTH and cortisol response to the DEX/CRH challenge impaired glucocorticoid receptor function
Dysthymia	elevated plasma cortisol elevated plasma CRH blunted ACTH response to CRH administration
Atypical depression/seasonal affective disorder	elevated 24-hour urinary free cortisol concentrations normal suppression of cortisol secretion after DEX administration (DST test) low CRH in CSF low plasma ACTH, normal plasma cortisol
Posttraumatic stress disorder	elevated CRH in CSF blunted ACTH response to CRH administration low basal and stress-induced cortisol output enhanced suppression of plasma cortisol in response to a low dose (0.5 mg) of DEX low ACTH and cortisol response to the DEX/CRH challenge
Chronic fatigue/fibromyalgia	low plasma cortisol low 24-hour urinary free cortisol small adrenal glands ACTH hypersecretion in response to severe acute stressors normal suppression of cortisol secretion after DEX administration (DST test)
Eating disorders	elevated plasma cortisol elevated 24-hour urinary free cortisol elevated CRH in CSF impaired suppression of cortisol secretion after DEX administration (DST test)
Alcohol dependence	blunted ACTH response to CRH administration CRH-stimulated cortisol secretion decreased in actively drinking alcoholics CRH-stimulated cortisol secretion increased during withdrawal enhanced corticotropin (ACTH) and cortisol response to the DEX/CRH challenge during withdrawal
Borderline personality disorder	enhanced corticotropin (ACTH) and cortisol response to the DEX/CRH challenge

Εικόνα 16: Πίνακας που καταγράφει τη σχέση του HPA άξονα με διάφορες ψυχιατρικές ασθένειες (75)

Υπερέκφραση CRH/Απουσία CRH: Παθολογία και πειραματικές προσεγγίσεις

Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά του χρόνου στρες τόσο σε ζώα όσο και στον άνθρωπο είναι μια συνεχής υπερλειτουργία του HPA άξονα. Αυτό καταγράφεται ως αυξημένη έκφραση του CRH mRNA ή/και του mRNA της βαζοπρεσίνης στον υποθάλαμο, και πιο συγκεκριμένα στον PVN. Έτσι, η χορήγηση CRH στον εγκέφαλο επίμυων προκαλεί νευροενδοκρινολογικές αλλαγές όμοιες με αυτές που έχουν περιγραφεί για το χρόνιο στρες. Δεν υπάρχουν πολλές έρευνες πάνω στην επιρροή της υπερέκφρασης της CRH σε συστήματα εκτός του HPA. Υπάρχουν, όμως, μελέτες που περιορίζονται στην επιρροή της CRH όταν αυτή υπερεκφάζεται στο ΚΝΣ. Μια ενδιαφέρουσα μελέτη το επιτυγχάνει μέσω διαγονιδιακών ποντικών των οποίων η υπερέκφραση της συγκεκριμένης ορμόνης ρυθμίζεται από τον υποκινητή Thy-1. Ο υποκινητής αυτός ρυθμίζει τη διαγονιδιακή έκφραση στους εγκεφαλικούς νευρώνες μετά τη γέννα αλλά και κατά την ενήλικη ζωή, περιορίζοντας την υπερέκφραση της CRH στο ΚΝΣ.(78) Στη μελέτη αυτή, τα ποντίκια που έχουν υψηλή έκφραση της CRH έχουν υψηλά επίπεδα κορτικοστερόνης στο πλάσμα και υπερτροφία των επινεφριδίων. Τα επίπεδα ACTH που καταγράφονται δεν εμφανίζουν κάποια σημαντική μεταβολή. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι ο φλοιός των επινεφριδίων των συγκεκριμένων πειραματόζων είναι υπερευαίσθητος στην ACTH. Στα ποντίκια αυτά παρατηρείται επίσης, αύξηση των CRH θετικών ινών στο μυελό των επινεφριδίων. Οι ίνες αυτές πιθανόν να προήλθαν από προγαγγλιακούς νευρώνες στο νωτιαίο μυελό και έφτασαν το μυελό των επινεφριδίων μέσω των σπλαχνικών νευρώνων. Η διέγερση των σπλαχνικών νευρώνων μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία των επινεφριδίων στην ACTH, μέσω ενός ενδοεπινεφριδιακού μηχανισμού CRH. Η απουσία της αυξημένης έκκρισης ACTH που αναμενόταν λόγω υπερέκκρισης CRH υποδεικνύει έναν μηχανισμό προσαρμογής σε υποφυσιακό επίπεδο, ίσως μειορρύθμιση του CRHR1 υποδοχέα ή αλλαγές στα κύτταρα προοπιομελανοκορτίνης.(78)



Εικόνα 17: Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός της CRH σε εγκέφαλο ποντικού αγρίου τύπου (A) και ποντικού που υπερεκφράζει CRH (B). Τα βέλη υποδεικνύουν τις περιοχές όπου υπάρχει μεγάλη διαφορά στα επίπεδα CRH, όπου CeA: κεντρικός πυρήνας της αμυγδαλής, CA3: η περιοχή των CA3 κυττάρων του ιππόκαμπου, Ctx: φλοιός, Hab: το ινίο του εγκεφάλου και VMH: ο έσω κοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου. (78)

Τα τρωκτικά είναι νυκτόβια ζώα και επηρεάζονται από τον ημερήσιο κύκλο φως/σκότους. Το 24ωρό τους μπορεί να χωριστεί στην φωτεινή περίοδο όπου παραμένουν αδρανή και τη σκοτεινή όπου είναι δραστήρια.(79) Τα διαγονιδιακά αυτά ποντίκια που υπερεκφράζουν CRH παρουσιάζουν αυξημένη θερμοκρασία σώματος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου κατά το δεύτερο μισό της φωτεινής περιόδου. Άλλες έρευνες, σε επίμυες, δείχνουν ότι η οξεία ή χρόνια χορήγηση για 7 ή 10 μέρες CRH αυξάνει την θερμοκρασία σώματος και στη φωτεινή και στη σκοτεινή περίοδο. Η επίδραση της CRH στη θερμοκρασία του σώματος είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του συμπαθητικού νευρικού συστήματος από τη CRH, συμπεριλαμβανομένου του λιπώδη ιστού που συμμετέχει στη θερμογένεση.

Η καρδιαγγειακή δραστηριότητα στα ποντίκια που έχουν υψηλή έκφραση CRH αυξάνεται, κάτι που καταγράφεται ως αυξημένος καρδιακός ρυθμός στη φωτεινή περίοδο.(78) Αυτό συνάδει με άλλες μελέτες που δείχνουν ότι η οξεία χορήγηση CRH στις κοιλίες του εγκεφάλου αυξάνει τον καρδιακό ρυθμό. Η επίδραση της χρόνιας χορήγησης CRH στην καρδιαγγειακή λειτουργία δεν έχει μελετηθεί σε

μεγάλο βαθμό. Είναι όμως γνωστό ότι το χρόνια στρες αυξάνει το βασικό καρδιακό ρυθμό τόσο στα τρωκτικά όσο και στον άνθρωπο. Τα δεδομένα αυτά επίσης συνάδουν με τις καταγραφές σε ποντίκια που υπερεκφράζουν CRH.

Τέλος τα διαγονιδιακά αυτά ποντίκια εμφανίζουν αυξημένη κατανάλωση τροφής και νερού. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με άλλες καταγραφές σε τρωκτικά που δείχνουν ότι η οξεία ή χρόνια χορήγηση CRH μειώνει τη λήψη τροφής. Πέρα από την άμεση επιρροή στη λήψη τροφής, έχει παρατηρηθεί ότι η CRH μειώνει την αποθήκευση ενέργειας ελαττώνοντας την πρόσληψη ενέργειας και ταυτόχρονα ενισχύοντας την κατανάλωσή της. Επίσης, οι ενεργειακές ανάγκες θα μπορούσαν να αυξάνονται από ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του μεταβολισμού, συμπεριλαμβανομένης και της ενεργοποίησης του καφέ λιπώδη ιστού που συμμετέχει στη θερμογένεση.(78) Τα διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία εστίαζαν τα πειράματα δεν είχαν αλλαγές στα επίπεδα δραστηριότητας, αλλά εμφάνιζαν αυξημένη θερμογένεση και καρδιακό ρυθμό. Το γεγονός αυτό μπορεί να δικαιολογήσει την αυξημένη δαπάνη ενέργειας. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι αυτά τα διαγονιδιακά ποντίκια, παρότι ξεκινούν με χαμηλότερο βάρος σώματος, στη συνέχεια η αύξηση του βάρους τους δεν διαφέρει από αυτή των ποντικιών αγρίου τύπου. Κάτι τέτοιο υποδεικνύει ότι τα διαγονιδιακά ποντίκια προσάρμοσαν το ενεργειακό τους ισοζύγιο έτσι ώστε να πληρούνται οι θερμιδικές τους ανάγκες και οι αυξημένες ενεργειακές τους απαιτήσεις λόγω της αύξησης του καρδιακού ρυθμού και της θερμοκρασίας.(78)

Όπως έχει αναφερθεί πολλές φορές, η CRH είναι κύριος ρυθμιστής της απόκρισης του HPA άξονα στο στρες. Είναι λογικό ότι μετά από κάποιο στρεσογόνο ερέθισμα οι CRH νευρώνες του PVN να ενεργοποιούνται και να καταγράφεται αύξηση στην έκφραση του γονιδίου και της ίδιας της ορμόνης στο πυλαίο-υποφυσιακό σύστημα. Η διαταραχή της λειτουργίας σηματοδότησης των CRH νευρώνων που προκαλείται από ανταγωνιστές της ορμόνης, αντισώματα που την αδρανοποιούν ή από βλάβες στον παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου μπορεί να καταστείλει ή ακόμα και να καταργήσει τη λειτουργία του HPA άξονα.(80) Παρόλα αυτά, η έκφραση του γονιδίου της CRH και η έκκριση της ορμόνης δεν αυξάνονται πάντα μετά το στρες, μια και μερικές φορές κάποια ερεθίσματα δεν προκαλούν αλλαγές ή ακόμα και οδηγούν στη μείωσή τους. Συνεπώς, τα CRH

knockout (CRH KO) ποντίκια αποτελούν ένα πολύ ενδιαφέρον μοντέλο μελέτης της δράσης της CRH στον HPA άξονα και κατ' επέκταση τη συμμετοχή της στην απόκριση του οργανισμού στο στρες.

Τα χαρακτηριστικά που φέρουν τα CRH KO ποντίκια επιβεβαιώνουν τον κεντρικό ρόλο της ορμόνης στη διέγερση του HPA άξονα, μια και εμφανίζουν ατροφία του φλοιού των επινεφριδίων και μειωμένη απόκριση σε διεγερτικά ερεθίσματα.(80) Τα knock out για τη CRH ποντίκια εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών και μερικώς αυξημένα επίπεδα mRNA της βαζοπρεσίνης στον υποθάλαμο. Πάραυτα, τα βασικά επίπεδα έκφρασης του POMC mRNA στην υπόφυση είναι φυσιολογικά, ενώ φυσιολογικά είναι και τα επίπεδα ACTH στο πλάσμα, καθώς και η ποσότητα του πεπτιδίου της στην υπόφυση. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η CRH δεν είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των κορτικοτρόφων ή για τη διατήρηση των βασικών επιπέδων έκφρασης του POMC mRNA και την έκκριση του αντίστοιχου πεπτιδίου.(81)

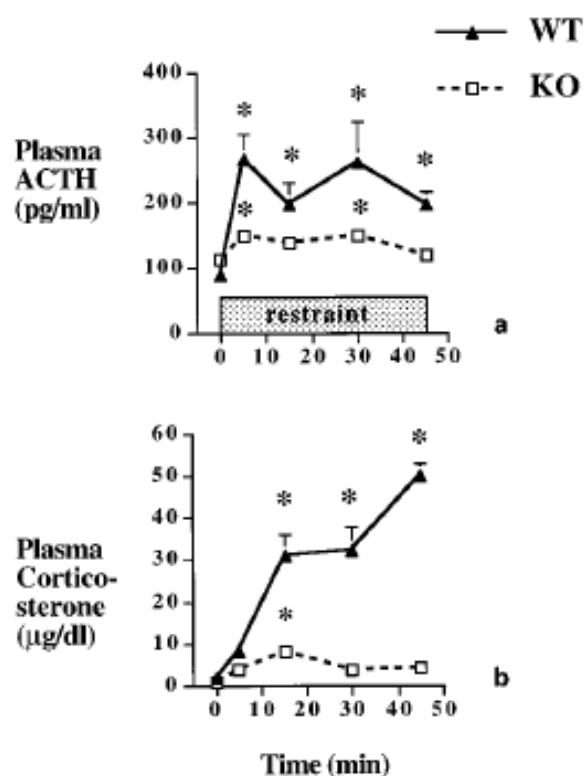
Μετά από επινεφριδιεκτομή, τόσο τα αγρίου τύπου όσο και τα knock out ποντίκια εμφανίζουν μια μεγάλη αύξηση στην ποσότητα του POMC mRNA στην υπόφυση, με τα CRH KO να έχουν λίγο χαμηλότερα επίπεδα POMC mRNA. Η αναπλήρωση των φυσιολογικών επιπέδων κορτικοστερόνης, που παρατηρούνται σε συνθήκες όπου απουσιάζει το στρες, στα ποντίκια που έχουν υποστεί επινεφριδιεκτομή καταστέλλει την ακραία αύξηση του POMC mRNA που καταγράφεται στα αγρίου τύπου και knock out ποντίκια. Παρά τη σχετικά φυσιολογική αύξηση στα επίπεδα mRNA της POMC που παρουσιάζουν τα knock out ποντίκια που έχουν υποστεί επινεφριδιεκτομή, τα επίπεδα της ACTH στο πλάσμα παραμένουν χαμηλά. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι αν η επινεφριδιεκτομή συνδυαστεί με χορήγηση CRH, τα επίπεδα ACTH στο πλάσμα των CRH KO ποντικιών φτάνουν τα ίδια επίπεδα με αυτά που έχουν τα αγρίου τύπου που έχουν, επίσης, υποστεί επινεφριδιεκτομή. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν τη θεωρία ότι η φυσιολογική ποσότητα POMC mRNA στα knock out για το γονίδιο της CRH ποντίκια που έχουν υποστεί επινεφριδιεκτομή εξαρτάται από την έκκριση των γλυκοκορτικοειδών, μια και το POMC RNA μπορεί να αυξηθεί χωρίς τη διέγερση των κορτικοτρόφων από τη CRH. Πέραν αυτού, τα ευρήματα δείχνουν ότι η CRH είναι

απαραίτητη στη διέγερση της έκκρισης της ACTH, κάτι που συνήθως συμβαίνει όταν μειώνονται τα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών.(81)

Στα τρωκτικά η ποσότητα της CRH στον υποθάλαμο και η έκκρισή της διαφέρουν μέσα στο 24ωρο. Η ανάπτυξη ενός ρυθμού στην έκκριση CRH συμπίπτει με την ανάπτυξη ενός ημερήσιου ρυθμού στην κορτικοστερόνη του πλάσματος. Χαρακτηριστικό είναι ότι η έκφραση του CRH mRNA αυξάνει από το πρωί έως το απόγευμα στους επίμυες αλλά μειώνεται ακραία κοντά στην αρχή του βραδιού καθώς οι συγκεντρώσεις της ACTH και των γλυκοκορτικοειδών φτάνουν τις μέγιστες τιμές τους στο πλάσμα. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι, πιθανόν, ο κίρκαδικός ρυθμός της έκκρισης γλυκοκορτικοειδών από το μυελό των επινεφριδίων μπορεί να ρυθμίζει την έκκριση της CRH, έναντι της θεωρίας ότι η CRH θέτει το ρυθμό. Αντιθέτως, άλλες έρευνες σε επίμυες δείχνουν ότι οι αλλαγές στην κορτικοστερόνη του πλάσματος δεν είναι απαραίτητες για τις ημερήσιες μεταβολές στην έκφραση του CRH mRNA. Το μοντέλο των CRH knock out ποντικών μπορεί να βοηθήσει στην εύρεση του ρόλου της CRH στη δημιουργία κα διατήρηση του ημερήσιου ρυθμού έκκρισης κορτικοστερόνης από το μυελό των επινεφριδίων.(81) Στα CRH KO η κίρκαδική αύξηση της κορτικοστερόνης στο αίμα απουσιάζει στα αρσενικά, ενώ στα θηλυκά είναι αρκετά μικρότερη του αναμενομένου. Όταν στα συγκεκριμένα πειραματόζωα εφαρμόστηκε συνεχής χορήγηση CRH, τη δεύτερη μέρα της αγωγής, εμφανίστηκε ο ημερήσιος ρυθμός στην παραγωγή κορτικοστερόνης. Κάτι τέτοιο υποδεικνύει ότι η ημερήσια εναλλαγή στα επίπεδα CRH δεν είναι απαραίτητη για τον καθορισμό της ημερήσιας ρυθμικής έκκρισης των γλυκοκορτικοειδών.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η CRH συμμετέχει στη ρύθμιση του HPA άξονα κατά την απόκριση στο στρες. Συνεπώς, τα knock out για τη συγκεκριμένη ορμόνη πειραματόζωα μπορούν να βοηθήσουν στην κατανόηση του ρόλου της CRH στον HPA άξονα. Για παράδειγμα, μετά από στρες περιορισμού, στα αρσενικά knock out ποντίκια απουσιάζει η παραγωγή ACTH και κορτικοστερόνης, ενώ τα θηλυκά έχουν αρκετά ελαττωμένη παραγωγή σε σχέση με τα αγρίου τύπου ποντίκια. Ομοίως, η νηστεία διάρκειας 36 ωρών, ένα ερέθισμα που οδηγεί σε μεγάλη αύξηση των επιπέδων ACTH και κορτικοστερόνης στα ποντίκια αγρίου τύπου, φαίνεται να μην προκαλεί τόσο ισχυρή απόκριση του HPA άξονα στα knock out άτομα. Εκτός αυτού, ποντίκια στα οποία απουσιάζει η CRH έχουν αρκετά μειωμένη, αλλά όχι μηδενική,

απόκριση στην αιμορραγία ή στην υπογλυκαιμία που μπορεί να προκληθεί από χορήγηση ινσουλίνης. Τα δεδομένα αυτά προτείνουν ότι η CRH είναι αναγκαία για τη φυσιολογική απόκριση της υπόφυσης και των επινεφριδίων σε ψυχολογικά και φυσιολογικά στρεσογόνα ερεθίσματα καθώς και ότι τα άλλα νευροπεπτίδια του υποθαλάμου, όπως η βαζοπρεσίνη και η ωκυτοκίνη, δεν μπορούν να αντισταθμίσει την απώλεια της CRH, έτσι ώστε να διατηρηθεί η φυσιολογική απόκριση στο στρες.(81)



Εικόνα 18: Χρονικό διάγραμμα των επιπέδων της ACTH (a) και της κορτικοστερόνης (b) κατά την εφαρμογή στρες περιορισμού σε θηλυκά ποντίκια αγρίου τύπου (WT) και knock out για το γονίδιο της CRH (KO). (81)

Μια άλλη δράση της CRH του υποθαλάμου είναι αυτή του αντιφλεγμονώδη παράγοντα μέσω της διέγερσης της έκκρισης γλυκοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια. Αντιθέτως, έρευνες δείχνουν ότι εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος σε ιστούς του ανοσοποιητικού και σε ιστούς που έχουν υποστεί φλεγμονή η CRH δρα ως προφλεγμονώδης παράγοντας. Μία μελέτη πάνω στη

δράση της CRH στο ανοσοποιητικό σύστημα κάνει χρήση των ΚΟ για τη CRH ποντικών και δύο διαφορετικών μοντέλων φλεγμονής, του υποδόριου κοκκιωματικού σχηματισμού (granuloma formation) μέσω χορήγησης καραγενάνης και του ενδομυϊκού αποστηματικού σχηματισμού(abscess formation)μέσω χορήγησης τουρπεντίνης. Μετά τη χορήγηση καραγενάνης, τα CRH knock out ποντίκια εμφανίζουν αρκετά υψηλότερη κυτταρική διήθηση από τα αγρίου τύπου ποντίκια, κάτι που, πιθανώς, οφείλεται στα χαμηλότερα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών στα knock out. Όμως όταν τα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών των ΚΟ τροποποιηθούν ώστε να προσεγγίζουν τις τιμές που δείχνουν τα αγρίου τύπου, η απόκριση του ανοσοποιητικού των CRH knock out είναι πολύ πιο ασθενής από αυτή των ποντικών αγρίου τύπου, κάτι που υποστηρίζει τη θεωρία περί προφλεγμονώδους δράσης της CRH.

Η ενδομυϊκή χορήγηση του ελαίου της τουρπεντίνης, η οποία δημιουργεί ένα τοπικό απόστημα, δημιουργεί μια όμοια αύξηση στην κορτικοστερόνης της κυκλοφορίας, τόσο σε φυσιολογικό γονότυπο όσο και σε ποντίκια στα οποία απουσιάζει το γονίδιο της CRH. Συνεπώς, η απόκριση των επινεφριδίων στην χορήγηση τουρπεντίνης και η μετέπειτα έκκριση κορτικοστερόνης είναι ανεξάρτητη της παρουσίας CRH, σε αντίθεση με άλλους στρέσορες στους οποίους η CRH είναι απαραίτητη για την απόκριση των επινεφριδίων σε αυτούς. Βέβαια, παρά την ίδια απόκριση κορτικοστερόνης και στους δύο γονότυπους, η τοπική φλεγμονώδης απόκριση των CRH ΚΟ ήταν χαμηλότερη από αυτή των αγρίων τύπου, κάτι που υποστηρίζει την ύπαρξη προφλεγμονώδους δράσης της CRH.(81)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η CRH κατέχει σημαντικό ρόλο και σε εγκεφαλικές λειτουργίες που επηρεάζουν τη συμπεριφορά. Φαρμακολογικές μελέτες πάνω σε διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν CRH δείχνουν ότι η συμπεριφορά τους χαρακτηρίζεται από υψηλό άγχος, κάτι που προκύπτει από την υψηλή έκφραση της ορμόνης σε εξωυποθαλαμικές εγκεφαλικές περιοχές. Ενδιαφέρον όμως παρουσιάζει ότι τα CRH ΚΟ έχουν φυσιολογική συμπεριφορά κάτω από βασικές συνθήκες αλλά και 30 λεπτά μετά από στρες περιορισμού. Πέραν τούτου, πεπτιδικοί ανταγωνιστές του CRHR1 υποδοχέα όπως η α-ελικοειδής CRH αλλά και μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές όπως ο CP-154 έχουν την ικανότητα να καταστείλουν συμπεριφορές που οφείλονται στο στρες, τόσο σε αγρίου τύπου όσο

και CRH KO ποντίκια σε foot shock test. Κάτι τέτοιο αποτελεί ένδειξη για τη συμμετοχή του CRHR1 σε συμπεριφορές που σχετίζονται με το άγχος. Ένα γεγονός που υποστηρίζει τη συμμετοχή του υποδοχέα σε συμπεριφορές σχετιζόμενες με το άγχος είναι ότι ποντίκια στα οποία έχει διαγραφεί επιλεκτικά το γονίδιο του CRHR1 υποδοχέα εμφανίζουν μειωμένη αγχογόνα συμπεριφορά σε διάφορες πειραματικές διαδικασίες.(81) Οι φαρμακολογικές μελέτες σε CRH knock out ποντίκια μαζί με μελέτες σε CRHR1 KO και CRHR2 KO ποντίκια προτείνουν ότι, πιθανώς, υπάρχει ένα άλλο πεπτίδιο CRH μορφής που ρυθμίζει τις συμπεριφορές που σχετίζονται με το στρες.

Τέλος, αριθμός ερευνών υποστηρίζει η CRH έχει ανορεξιογόνο δράση. Πράγματι, μετά από ενδοεγκεφαλική έγχυση CRH μειώνεται η πρόσληψη τροφής στα τρωκτικά, ενώ η χορήγηση κάποιου ανταγωνιστή της ορμόνης εξασθενεί τη μείωση της λήψης της τροφής που παρατηρείται μετά από έκθεση σε διάφορους στρέσορες. Πάραυτα, όπως και στην περίπτωση των διαγονιδιακών ποντικίων που υπερεκφάζουν CRH, οι καταγραφές στα CRH KO ποντίκια δεν είναι οι αναμενόμενες. Τα ποντίκια αυτά δεν διαφέρουν από τα αγρίου τύπου στην πρόσληψη τροφής μετά από έκθεση σε στρέσορες όπως αυτό του καθημερινού περιορισμού ή του χειρουργικού στρες.(81) Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η CRH δεν είναι ο μοναδικός ρυθμιστής της πρόσληψης τροφής.

CRH και θεραπευτικές προοπτικές

Η CRH, τα πεπτίδια που ανήκουν στην ίδια οικογένεια και οι υποδοχείς τους εντοπίζονται, όπως έχει αναφερθεί, στο κεντρικό νευρικό σύστημα αλλά και σε έναν μεγάλο αριθμό περιφερειακών ιστών, συμπεριλαμβανομένου του ανοσοποιητικού, του καρδιαγγειακού και του αναπαραγωγικού συστήματος. Οι περιοχές αυτές έχουν συνδεθεί με την παθοφυσιολογία πολλών ασθενειών. Τα παραπάνω έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη επιλεκτικών ανταγωνιστών των CRH υποδοχέων, οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί, πειραματικά, για να διαλευκάνουν τον ρόλο της CRH και των συγγενικών της πεπτιδίων σε φυσιολογικές αλλά και παθολογικές διαδικασίες. Βέβαια, λόγω της πολυπλοκότητας του συστήματος των CRHRs, οι οποίοι διαχωρίζονται σε πολλούς υποκατηγορίες, οι ανταγωνιστές που αναπτύσσονται

εργαστηριακά πρέπει να είναι αρκετά επιλεκτικοί και να στοχεύουν συγκεκριμένες ισομορφές των υποδοχέων που και αυτές, με τη σειρά τους, συνδέονται με συγκεκριμένα ενδοκυττάρια μονοπάτια μεταγωγής σήματος.(82)

Με βάση το τι έχει αναφερθεί πολλές φορές έως τώρα, η αγχογόνος και, πιθανώς, η καταθλιπτογόνος δράση της CRH μέσω, κυρίως, του CRHR1 υποδοχέα υποδεικνύει ότι οι ανταγωνιστές του CRHR1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αγωγή για τη χρόνια αγχώδη διαταραχή και τη μελαγχολική κατάθλιψη. Μη πεπτιδικοί ανταγωνιστές του CRHR1 έχουν χρησιμοποιηθεί σε μοντέλα εξαρτημένης μάθησης φόβου σε επίμυες: Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι η ανταλαρμίνη, ένας ανταγωνιστής του CRHR1 υποδοχέα, εμπόδισε την εγκαθίδρυση του φόβου αλλά και την έκφραση φόβου που είχε ήδη εγκατασταθεί στα ζώα.(82) Σε μαϊμούδες *Rhesus* η ανταλαρμίνη εμποδίζει την έκφραση συμπεριφορών που σχετίζονται με το στρες. Ενδιαφέρον είναι ότι, σε μελέτες μικρής ή και μεγάλης χρονικής διάρκειας πάνω σε ζώα, ο συγκεκριμένος ανταγωνιστής προκαλεί μικρή μείωση των επιπέδων της ACTH, των γλυκοκορτικοειδών, της αδρεναλίνης και νοραδρεναλίνης. Μελέτες πάνω σε ζώα στα οποία έγινε χρόνια χορήγηση ανταλαρμίνης έδειξαν ότι τα βασικά επίπεδα ACTH και κορτικοστερόνης μειώθηκαν, ενώ ταυτόχρονα ο φλοιός των επινεφριδίων εμφάνισε μειωμένη βασική απόκριση στην ACTH. Όμως, όταν στα ζώα αυτά εφαρμόζεται ένας ισχυρός στρεσογόνος παράγοντας τα επίπεδα ACTH και κορτικοστερόνης αυξάνονται και οι τιμές που λαμβάνουν είναι όμοιες με αυτές που παρουσιάζουν ζώα στα οποία δεν έχει εφαρμοστεί χρόνια χορήγηση ανταλαρμίνης. Αυτό δείχνει ότι η χρόνια χορήγηση ανταλαρμίνης δεν προκαλεί μη επαρκή απόκριση των επινεφριδίων σε κάποιο ισχυρό στρεσογόνο παράγοντα.(83)

Οι έρευνες της δράσης της ανταλαρμίνης σε μαϊμούδες *Rhesus* μπορούν να προσφέρουν μια αιτιολογία για το παράδοξο ότι παρατηρείται αλλαγή στη συμπεριφορά χωρίς να υπάρχει μεγάλη μείωση στις περιφερειακές ορμόνες του συστήματος του στρες. Ο ανταγωνιστής του CRHR1 μειώνει σημαντικά τα επίπεδα της CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Στα συγκεκριμένα ζώα, τα επίπεδα της CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό σχετίζονται με τις συμπεριφορές που οφείλονται στο στρες. Αυτό, πιθανώς, οφείλεται στο ότι ο ανταγωνιστής διακόπτει έναν μηχανισμό θετικής ανάδρασης ανάμεσα στην αμυγδαλή, τον υποθάλαμο και το LC/NE σύστημα.(82)

Μια άλλη δράση της CRH είναι να επηρεάζει τη λήψη τροφής και το βάρος του σώματος. Παρόλα αυτά, ένας CRHR1 ανταγωνιστής φαίνεται να μη οδηγεί σε μεταβολές στους συγκεκριμένους τομείς. Τόσο η CRH όσο και τα γλυκοκορτικοειδή έχουν ισχυρή αρνητική επιρροή στο βαθύ ύπνο. Η CRH διεγείρει τον REM ύπνο, ενώ τα γλυκοκορτικοειδή έχουν κατασταλτική δράση σε αυτόν (REM ύπνο). Η ευαισθησία των μηχανισμών που ελέγχουν τον ύπνο στη CRH και στα γλυκοκορτικοειδή αυξάνεται με βάση την ηλικία. Αυτό αιτιολογεί το γεγονός ότι η αϋπνία που οφείλεται στο στρες είναι αρκετά διαδεδομένη σε άτομα ηλικίας μεγαλύτερης των 35-45. Σύγχρονες μελέτες βρίσκουν ότι ασθενείς με ιδιοπαθή αϋπνία έχουν αυξημένα απογευματινά επίπεδα ACTH και κορτιζόλης στο πλάσμα. Τα επίπεδα αυτά των ορμονών παραμένουν υψηλά και στην πιθανή ώρα εκκίνησης του ύπνου, εμποδίζοντας, ίσως, την έναρξη και συνέχισή του.(82) Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι ένας CRHR1 ανταγωνιστής θα μπορούσε να δράσει ως παράγοντας που προάγει τον ύπνο σε ασθενείς με αϋπνία που οφείλεται στις συγκεντρώσεις της CRH ή των γλυκοκορτικοειδών, περιπτώσεις που περιλαμβάνουν αγχώδη και καταθλιπτικά άτομα, καθώς και άτομα με ιδιοπαθή αϋπνία.

Ένας CRHR1 ανταγωνιστής έχει αντιστρεσογόνες ιδιότητες. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη θεωρία ότι το σύνδρομο στέρησης που προκαλείται μετά τη διακοπή χρήσης μιας εθιστικής ουσίας είναι ένα φαινόμενο άρρηκτα συνδεδεμένο με το στρες, οδηγεί στην υπόθεση ότι ένας ανταγωνιστής του CRHR1 υποδοχέα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αγωγή σε άτομα που πάσχουν από αυτό το σύνδρομο.

Με βάση τη θεωρία ότι η CRH συμμετέχει στο σχηματισμό συνδέσεων που σχετίζονται με τη μετατραυματική κατάθλιψη ή άλλες διαταραχές του στρες, μέσω της δράσης της ως νευροτοξικός και διεγερτικός παράγοντας σε συνέργεια με τα διεγερτικά αμινοξέα, τίθεται η ιδέα ότι ο ανταγωνιστής της CRH μπορούν να αποτρέψουν την εγκαθίδρυση τέτοιων συνδέσεων.(82) Εν γένει, θεωρείται ότι η CRH έχει νευροεκφυλιστικές ιδιότητες, μέσω της ενίσχυσης της νευροτοξικής δράσης των διεγερτοτοξικών αμινοξέων. Εκτός αυτού, εάν η CRH συμμετέχει στο σχηματισμό επιληπτικών εστιών, τότε ένας ανταγωνιστής της θα παρεμπόδιζε το σχηματισμό των εστιών και την παραγωγή ηλεκτροχημικών ερεθισμάτων από αυτές.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, έρευνες δείχνουν ότι η CRH έχει προφλεγμονώδη δράση. Η προφλεγμονώδης δράση της ορμόνης βασίζεται σε πολλούς μηχανισμούς, με την αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων να είναι ο βασικός. Η CRH παράγεται σε περιφερικά σημεία που υφίστανται φλεγμονή. Η παραγωγή αυτή γίνεται άμεσα από περιφερικά νεύρα και χρόνια από τα ίδια τα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Η χρήση ενός ανταγωνιστή του CRHR1 υποδοχέα έχει βελτιώσει τη φλεγμονώδη κατάσταση σε επίμυες.(82) Με βάση τη δυνατότητα της CRH να οδηγεί σε αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων, θεωρείται ότι ένας CRHR1 ανταγωνιστής μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αγωγή για αλλεργικές ή αγγειοκινητικές καταστάσεις. Τέτοιες περιπτώσεις είναι το άσθμα, το έκζεμα και οι ημικρανίες. Ένας CRHR1 ανταγωνιστής θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και για το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου, μια και η κατάσταση αυτή, θεωρείται ότι οφείλεται στο στρες και σχετίζεται με την επιρροή της CRH στη δραστηριότητα του πυελικού πνευμονογαστρικού νεύρου και στη αποκοκκίωση των υποβλεννογόνιων εντερικών μαστοκυττάρων.(82) Η χρήση ενός CRHR1 ανταγωνιστή θα μπορούσε να αποτρέψει τόσο τη νευροτοξική όσο και προφλεγμονώδη δράση της ορμόνης. Τέτοια χρήση θα μπορούσε να βρει κλινική εφαρμογή σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως η Alzheimer's και η σκλήρυνση κατά πλάκας.

Είναι, πλέον, γνωστό ότι το χρόνια στρες και τα επαναλαμβανόμενα επεισόδια οξέος στρες μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη χαρακτηριστικών του δευτερογενούς μεταβολικού συνδρόμου σε ευάλωτα, λόγω γενετικής προδιάθεσης ή τρόπου ζωής, άτομα. Μερικά εκ των χαρακτηριστικών αυτών είναι η ανοχή στην ινσουλίνη, η δυσανεξία σε υδατάνθρακες, η δυσλιπιδαιμία και η υπέρταση. Η χρόνια χρήση ενός CRHR1 ανταγωνιστή μπορεί, θεωρητικά, να αποτρέψει την ανάπτυξη αυτού του συνδρόμου.

Μια από τις κύριες πηγές CRH στους ανθρώπους είναι ο πλακούντας. Ο ίδιος έχει σημαντικό ρόλο στην εγκυμοσύνη και χαρακτηρίζεται από δράσεις τόσο στην έγκυο γυναίκα όσο και στο έμβρυο. Οι δράσεις αυτές περιλαμβάνουν την προετοιμασία για το τοκετό, πιθανώς και την έναρξή του, και τη διέγερση των επινεφριδίων του εμβρύου για την έκκριση ανδρογόνων, που στη συνέχεια μπορούν να μετατραπούν σε οιστρογόνα στον πλακούντα. Όλοι οι τύποι πρόωρου τοκετού έχουν συνδεθεί με αύξηση της CRH στο μητρικό πλάσμα. Δεν είναι γνωστό

αν η αύξηση αυτή είναι απόκριση στην ενεργοποίηση ενός μηχανισμού που προσπαθεί να αποτρέψει τις πρόωρες μυομήτριες συσπάσεις και κατ'επέκτασιν τον πρόωρο τοκετό. Θεωρείται ότι στον πρόωρο τοκετό, στον οποίο συμμετέχει το σύστημα της CRH, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας CRHR1 ανταγωνιστής για να επιβραδύνει ή να αποτρέψει τον τοκετό. (82)

Μια άλλη χρήση ενός CRHR1 ανταγωνιστή θα ήταν στη θεραπεία της συγγενούς υπερπλασίας των επινεφριδίων (congenital adrenal hyperplasia). Η χρήση του ανταγωνιστή μπορεί να επιτρέψει τη χρήση μικρότερων δόσεων γλυκοκορτικοειδών, μειώνοντας κατά αυτών τον τρόπο τις παρενέργειες από την υπερκορτιζολαιμία. Η βοηθητική δράση του ανταγωνιστή θα βασιζόταν στην πρόκληση μιας επιπλέον μείωσης των επιπέδων ACTH, κάτι που θα κατέληγε σε μειωμένη έκκριση ανδρογόνων από τα επινεφρίδια.

Τέλος, ένας CRHR1 ανταγωνιστής θα ήταν χρήσιμος στη θεραπεία όγκων της υπόφυσης που εκκρίνουν ACTH. Οι όγκοι αυτοί εκφράζουν υποδοχείς της CRH, εκφράζουν σε μειωμένο επίπεδο CRH-BP και μπορούν να αντιδράσουν σε εξωγενή CRH.(82)

Η ανάλυση των πιθανών χρήσεων ενός CRHR2 ανταγωνιστή σε θεραπευτικές αγωγές είναι δύσκολη, καθώς ο αριθμός των ερευνών δεν είναι αρκετά μεγάλος.(82) Μερικές, θεωρητικές, χρήσεις συγγενικών πεπτιδίων της CRH που δρουν στον CRHR2 υποδοχέα θα ήταν στη μείωση της καταστολής της όρεξης λόγω στρες, η διέγερση της έκκρισης CRH από τον υποθάλαμο καθώς το πεπτίδιο αυτό παρεμποδίζει την αυτοκαταστολή της CRH μέσω του CRHR2 υποδοχέα και η διακοπή της περιφερικής αγγειοδιαστολής που ρυθμίζεται μέσω του CRHR2. Άλλες πιθανές εφαρμογές τέτοιων ανταγωνιστών θα ήταν για την καταπολέμηση της ανορεξίας και καχεξίας που προκαλείται από ασθένειες όπως ο καρκίνος ή το AIDS, της άτυπης κατάθλιψης, των συνδρόμων χρόνιου πόνου ή χρόνιας κόπωσης, του συνδρόμου υπερβολικής υπνηλίας κατά τη διάρκεια της ημέρας και, τέλος, της υπότασης που οφείλεται στις κυτοκίνες.(82)

Επίλογος

Ως στρες χαρακτηρίζεται η κατάσταση κατά την οποία η ομοιόσταση ενός οργανισμού απειλείται ή εκλαμβάνεται ως υπό απειλή από εσωτερικούς ή εξωτερικούς παράγοντες. Το στρες έχει μεγάλη επιρροή στη λειτουργία του κεντρικού και περιφερικού νευρικού συστήματος. Η επίδρασή του στο ΚΝΣ διαφέρει ανάλογα με την περιοχή του εγκεφάλου που μελετάται. Ο οργανισμός έχει αναπτύξει ένα περίπλοκο σύστημα μηχανισμών απόκρισης στο στρες που ονομάζεται σύστημα στο στρες. Η απόκριση του οργανισμού στο στρες μπορεί να φέρει φυσιολογικές αλλά και συμπεριφορικές αλλαγές. Το σύστημα του στρες αποτελείται από κεντρικά και περιφερικά τμήματα. Κύρια και πιο σημαντικά τμήματα είναι τα συστήματα της CRH και του LC/NE καθώς και τα περιφερικά τους μέλη, ο HPA άξονας, το απαγωγό σήμα του SAM και τμήματα του παρασυμπαθητικού.

Η CRH είναι ένα νευροπεπτίδιο που συμμετέχει στην απόκριση στο στρες και αποτελείται από 41 αμινοξέα. Η ίδια έχει κύριο ρόλο στη λειτουργία του HPA άξονα, καθώς διεγείρει την υπόφυση, η οποία με τη σειρά της απελευθερώνει ACTH. Η οικογένεια των CRH πεπτιδίων έχει μεγάλη εξελικτική ιστορία, κάτι που υποδεικνύει το σημαντικό ρόλο που έχουν στους μηχανισμούς διατήρησης της ομοιόστασης ενός οργανισμού. Το νευροπεπτίδιο αυτό εμφανίζει ευρεία κατανομή στο κεντρικό αλλά και περιφερικό νευρικό σύστημα. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις της CRH παρατηρούνται στον υποθάλαμο, ενώ νευρικές ίνες θετικές σε CRH εντοπίζονται στον ιππόκαμπο και τον υπομέλανα τόπο. Οι περιοχές αυτές συμμετέχουν στη ρύθμιση της απόκρισης του στρες, κάτι που υποστηρίζει τη θεωρία ότι η CRH, πέραν της δράσης της στον HPA άξονα, επηρεάζει την απόκριση στο στρες και μέσω εξωυποθαλαμικών εγκεφαλικών περιοχών.

Καθώς η CRH αποτελεί ένα εκ των κυρίων διαμεσολαβητικών μορίων του στρες, δεν αποτελεί έκπληξη ότι η έκφραση του γονιδίου της ρυθμίζεται από αρκετούς μηχανισμούς, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η βέλτιστη απόκριση σε στρεσογόνα ερεθίσματα. Το γονίδιο της CRH υπόκειται σε επιγενετική ρύθμιση. Οι επιγενετικές αλλαγές αποτελούν αποκρίσεις σε αναπτυξιακές ή περιβαλλοντικές μεταβολές. Η επίδραση της επιγενετικής στο γονίδιο της CRH μπορεί να έχουν

θετική ή αρνητικής επιρροή στην έκφραση του ιδίου, και κατ' επέκταση στον τρόπο με τον οποίο αποκρίνεται ο οργανισμός στο στρες.

Κύρια περίοδος κατά την οποία οι περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν τεράστια επίδραση στον οργανισμό είναι τα πρώτα στάδια της ζωής. Πράγματι, ήδη από την εγκυμοσύνη στρεσογόνοι περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν σημαντικές επιρροές στο σύστημα του στρες αλλά και στον τρόπο με τον οποίο θα λειτουργεί αυτό στην ενήλικη ζωή. Η ευαισθησία αυτή στους περιβαλλοντικούς παράγοντες παραμένει και στα πρώτα χρόνια μετά τη γέννηση, οπότε η νευροπλαστικότητα είναι υψηλή. Η δράση της CRH σε αυτό το χρονικό διάστημα είναι πολύ κρίσιμη. Χαρακτηριστικό είναι ότι ο πλακούντας παράγει ο ίδιος CRH και η ίδια παίζει σημαντικό ρόλο στον τοκετό. Μετά τη γέννα, έχει βρεθεί ότι οξείες στρέσορες, όπως η μεγάλη χρονική διάρκεια μητρική στέρση, οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή και έκκριση CRH. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι τα υψηλά αυτά επίπεδα της CRH επιδρούν στη συμπεριφορά που θα παρουσιάσει ο οργανισμός στην ενήλικη ζωή.

Υπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων της CRH, ο CRHR1 και ο CRHR2. Οι υποδοχείς αυτοί εμφανίζουν διαφορετική κατανομή μεταξύ τους, κάτι που υποδεικνύει διαφορετικούς λειτουργικούς ρόλους. Μετά τη σύνδεση του συνδέτη με έναν υποδοχέα της CRH τίθενται σε λειτουργία διαφορετικά μονοπάτια, τα οποία έχουν διαφορετικές δράσεις πάνω στο κύτταρο. Μεγάλος αριθμός CRHRs εμφανίζεται και σε εγκεφαλικές περιοχές που δεν συμμετέχουν στο σύστημα του HPA άξονα, αλλά έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του συστήματος του στρες. Μερικές εκ των περιοχών αυτών είναι η αμυγδαλή, ο ιππόκαμπος και ο μέσος προμετωπιαίος φλοιός, στους οποίους η δράση της CRH επιφέρει μεγάλες συμπεριφορικές αλλαγές στον τρόπο αντιμετώπισης του στρες από τον οργανισμό. Εκτός των περιοχών αυτών, η CRH επιδρά και στον υπομέλανα τόπο. Αυτό δείχνει ότι η ίδια συμμετέχει στη ρύθμιση του συστήματος LC/NE και, κατ' επέκταση στη ρύθμιση και των δύο κεντρικών τμημάτων του μηχανισμού απόκρισης στο στρες. Κάτι τέτοιο εδραιώνει την υπόθεση ότι η CRH κατέχει κεντρικό ρόλο στην απόκριση του οργανισμού στο στρες.

Αρκετές παθολογικές καταστάσεις φαίνεται είτε να οφείλονται σε αρνητικές επιρροές του στρες στον οργανισμό είτε να επιδεινώνονται από αυτό. Μια και ήδη έχει εδραιωθεί ο σημαντικός ρόλος της CRH στον μηχανισμό του στρες, είναι

επόμενο και η συμμετοχή της στις παθολογικές επιδράσεις που συνδέονται με το στρες. Η υπερέκφραση ή χαμηλότερη έκφραση της CRH συνδέονται με διάφορες δυσλειτουργίες του οργανισμού. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η μείζων καταθλιπτική διαταραχή, όπου τα αυξημένα επίπεδα της CRH φαίνεται να έχουν αγγογόνο και καταθλιπτική δράση. Συνεπώς, η χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων της CRH εμφανίζεται ως μια ενδιαφέρουσα θεραπευτική προοπτική όχι μόνο για τη συγκεκριμένη παθολογική κατάσταση αλλά και για κάθε κατάσταση που χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογικά επίπεδα της συγκεκριμένης ορμόνης. Εντέλει, η έρευνα πάνω στη CRH και τους υποδοχείς της είναι πολλά υποσχόμενη, καθώς μέσω αυτής μπορούν να διαλευκανθούν πολλοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στην απόκριση του οργανισμού στο στρες και να βρεθούν νέες θεραπείες για παθολογικές καταστάσεις που συνδέονται με αυτό.

Βιβλιογραφία

1. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nature reviews Endocrinology*. 2009;5(7):374-81.
2. Nicolaides NC, Kyratzi E, Lamprokostopoulou A, Chrousos GP, Charmandari E. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*. 2015;22(1-2):6-19.
3. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*. 1992;267(9):1244-52.
4. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN. Mechanisms of stress in the brain. 2015;18(10):1353-63.
5. Tsigos C, Kyrou I, Kassi E, Chrousos GP. Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
6. Chrousos GP. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;851:311-35.
7. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*. 2002;53(4):865-71.
8. Spencer RL, Deak T. A users guide to HPA axis research. *Physiology & behavior*. 2016.
9. Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: functional organization and potential clinical significance. *Neurology*. 2009;73(20):1699-704.
10. McEwen BS, Gianaros PJ. Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1186:190-222.
11. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2006;8(4):367-81.
12. Popov VI, Bocharova LS. Hibernation-induced structural changes in synaptic contacts between mossy fibres and hippocampal pyramidal neurons. *Neuroscience*. 1992;48(1):53-62.
13. McEwen BS, Morrison JH. Brain On Stress: Vulnerability and Plasticity of the Prefrontal Cortex Over the Life Course. *Neuron*. 2013;79(1):16-29.
14. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. *Nature reviews Neuroscience*. 2009;10(6):423-33.

15. Lovejoy DA, Chang BS, Lovejoy NR, del Castillo J. Molecular evolution of GPCRs: CRH/CRH receptors. *Journal of molecular endocrinology*. 2014;52(3):T43-60.
16. ORTH DN. Corticotropin-Releasing Hormone in Humans. *Endocrine Reviews*. 1992;13(2):164-91.
17. Abou-Seif C, Shipman KL, Allars M, Norris MH, Chen YX, Smith R, et al. Tissue specific epigenetic differences in CRH gene expression.
18. Majzoub JA. Corticotropin-releasing hormone physiology. *European Journal of Endocrinology*. 2006;155(suppl 1):S71-S6.
19. Aguilera G, Liu Y. The molecular physiology of CRH neurons. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2012;33(1):67-84.
20. Ma XM, Camacho C, Aguilera G. Regulation of corticotropin-releasing hormone (CRH) transcription and CRH mRNA stability by glucocorticoids. *Cellular and molecular neurobiology*. 2001;21(5):465-75.
21. Kageyama K, Suda T. Transcriptional regulation of hypothalamic corticotropin-releasing factor gene. *Vitamins and hormones*. 2010;82:301-17.
22. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics*. 2003;33 Suppl:245-54.
23. King BR, Nicholson RC. Advances in understanding corticotrophin-releasing hormone gene expression. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2007;12:581-90.
24. Pan X, Bowman M, Scott RJ, Fitter J, Nicholson RC, Smith R, et al. Methylation of the Corticotropin Releasing Hormone Gene Promoter in BeWo Cells: Relationship to Gene Activity. *International journal of endocrinology*. 2015;2015:861302.
25. Chen J, Evans AN, Liu Y, Honda M, Saavedra JM, Aguilera G. Maternal deprivation in rats is associated with corticotropin releasing hormone (CRH) promoter hypomethylation and enhances CRH transcriptional responses to stress in adulthood. *Journal of Neuroendocrinology*. 2012;24(7):1055-64.
26. Elliott E, Ezra-Nevo G, Regev L, Neufeld-Cohen A, Chen A. Resilience to social stress coincides with functional DNA methylation of the *Crf* gene in adult mice. *Nature neuroscience*. 2010;13(11):1351-3.
27. Stiles J, Jernigan TL. The Basics of Brain Development. *Neuropsychology Review*. 2010;20(4):327-48.
28. Andersen SL. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2003;27(1-2):3-18.

29. Glover V, O'Connor TG, O'Donnell K. Prenatal stress and the programming of the HPA axis. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2010;35(1):17-22.
30. O'Connor TG, Heron J, Golding J, Beveridge M, Glover V. Maternal antenatal anxiety and children's behavioural/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*. 2002;180:502-8.
31. Sandman CA, Glynn LM. Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Programs the Fetal and Maternal Brain. *Future neurology*. 2009;4(3):257-61.
32. Petrou S. The economic consequences of preterm birth during the first 10 years of life. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2005;112 Suppl 1:10-5.
33. Hanson MA, Gluckman PD. Developmental origins of health and disease: new insights. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;102(2):90-3.
34. Class QA, Buss C, Davis EP, Gierczak M, Pattillo C, Chicz-DeMet A, et al. Low Levels of Corticotropin-Releasing Hormone during Early Pregnancy Are Associated with Precocious Maturation of the Human Fetus. *Developmental neuroscience*. 2008;30(6):419-26.
35. Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero DM, Noble-Haeusslein LJ. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in neurobiology*. 2013;0:1-16.
36. Schmidt MV, Enthoven L, van der Mark M, Levine S, de Kloet ER, Oitzl MS. The postnatal development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the mouse. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2003;21(3):125-32.
37. Upton KJ, Sullivan RM. Defining age limits of the sensitive period for attachment learning in rat pups. *Dev Psychobiol*. 2010;52(5):453-64.
38. Schmidt MV, Oitzl MS, Levine S, de Kloet ER. The HPA system during the postnatal development of CD1 mice and the effects of maternal deprivation. *Brain research Developmental brain research*. 2002;139(1):39-49.
39. Anisman H, Zaharia MD, Meaney MJ, Merali Z. Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 1998;16(3-4):149-64.
40. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature reviews Neuroscience*. 2009;10(6):434-45.

41. Sanchez MM. The impact of early adverse care on HPA axis development: Nonhuman primate models. *Hormones and Behavior*. 2006;50(4):623-31.
42. Romeo RD. The Teenage Brain: The Stress Response and the Adolescent Brain. *Current directions in psychological science*. 2013;22(2):140-5.
43. Stroud LR, Foster E, Papandonatos GD, Handwerker K, Granger DA, Kivlighan KT, et al. Stress Response and the Adolescent Transition: Performance versus Peer Rejection Stressors. *Development and psychopathology*. 2009;21(1):47-68.
44. Grammatopoulos DK. Insights into mechanisms of corticotropin-releasing hormone receptor signal transduction. *British Journal of Pharmacology*. 2012;166(1):85-97.
45. Eghbal-Ahmadi M, Hatalski CG, Lovenberg TW, Avishai-Eliner S, Chalmers DT, Baram TZ. The developmental profile of the corticotropin releasing factor receptor (CRF(2)) in rat brain predicts distinct age-specific functions. *Brain Research Developmental Brain Research*. 1998;107(1):81-90.
46. Hauger RL, Risbrough V, Brauns O, Dautzenberg FM. Corticotropin Releasing Factor (CRF) Receptor Signaling in the Central Nervous System: New Molecular Targets. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2006;5(4):453-79.
47. Siddappa R, Martens A, Doorn J, Leusink A, Olivo C, Licht R, et al. cAMP/PKA pathway activation in human mesenchymal stem cells in vitro results in robust bone formation in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(20):7281-6.
48. Alberts B. *Molecular Biology of the Cell*: Garland Science; 2002.
49. Roof AK, Gutierrez-Hartmann A. Consider the context: Ras/ERK and PI3K/AKT/mTOR signaling outcomes are pituitary cell type-specific. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017.
50. Friebe A, Koesling D. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circulation research*. 2003;93(2):96-105.
51. Teli T, Markovic D, Levine MA, Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. Regulation of Corticotropin-Releasing Hormone Receptor Type 1 α Signaling: Structural Determinants for G Protein-Coupled Receptor Kinase-Mediated Phosphorylation and Agonist-Mediated Desensitization. *Molecular Endocrinology*. 2005;19(2):474-90.
52. Sheppard D. Dominantnegativemutants: toolsforthestudyofproteinfuctioninvitroandin vivo. *Americanjournalofrespiratorycellandmolecularbiology*. 1994;11(1):1-6.

53. Aguilera G, Nikodemova M, Wynn PC, Catt KJ. Corticotropin releasing hormone receptors: two decades later. *Peptides*. 2004;25(3):319-29.
54. Grammatopoulos DK. The role of CRH receptors and their agonists in myometrial contractility and quiescence during pregnancy and labour. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2007;12:561-71.
55. Wetzka B, Sehringer B, Schafer WR, Biller S, Hor C, Benedek E, et al. Expression patterns of CRH, CRH receptors, and CRH binding protein in human gestational tissue at term. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2003;111(3):154-61.
56. Hiroi N, Wong ML, Licinio J, Park C, Young M, Gold PW, et al. Expression of corticotropin releasing hormone receptors type I and type II mRNA in suicide victims and controls. *Molecular psychiatry*. 2001;6(5):540-6.
57. Zohar I, Weinstock M. Differential effect of prenatal stress on the expression of corticotrophin-releasing hormone and its receptors in the hypothalamus and amygdala in male and female rats. *Journal of neuroendocrinology*. 2011;23(4):320-8.
58. Brunton PJ, Donadio MV, Russell JA. Sex differences in prenatally programmed anxiety behaviour in rats: differential corticotropin-releasing hormone receptor mRNA expression in the amygdaloid complex. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. 2011;14(6):634-43.
59. Insel TR, Battaglia G, Fairbanks DW, De Souza EB. The ontogeny of brain receptors for corticotropin-releasing factor and the development of their functional association with adenylate cyclase. *J Neurosci*. 1988;8(11):4151-8.
60. Avishai-Eliner S, Yi S-J, Baram TZ. Developmental profile of messenger RNA for the corticotropin-releasing hormone receptor in the rat limbic system. *Brain research Developmental brain research*. 1996;91(2):159-63.
61. Li C, Liu Y, Yin S, Lu C, Liu D, Jiang H, et al. Long-term effects of early adolescent stress: dysregulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and central corticotropin releasing factor receptor 1 expression in adult male rats. *Behavioural brain research*. 2015;288:39-49.
62. McEwen BS, Nasca C, Gray JD. Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2016;41(1):3-23.
63. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in neurosciences*. 1997;20(2):78-84.

64. Maras PM, Baram TZ. Sculpting the hippocampus from within: stress, spines, and CRH. *Trends in neurosciences*. 2012;35(5):315-24.
65. Rainnie DG, Bergeron R, Sajdyk TJ, Patil M, Gehlert DR, Shekhar A. Corticotrophin releasing factor-induced synaptic plasticity in the amygdala translates stress into emotional disorders. *J Neurosci*. 2004;24(14):3471-9.
66. Shekhar A, Truitt W, Rainnie D, Sajdyk T. Role of stress, corticotrophin releasing factor (CRF) and amygdala plasticity in chronic anxiety. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. 2005;8(4):209-19.
67. Merali Z, Khan S, Michaud DS, Shippy SA, Anisman H. Does amygdaloid corticotrophin-releasing hormone (CRH) mediate anxiety-like behaviors? Dissociation of anxiogenic effects and CRH release. *The European journal of neuroscience*. 2004;20(1):229-39.
68. Uribe-Marino A, Gassen NC, Wiesbeck MF, Balsevich G, Santarelli S, Solfrank B, et al. Prefrontal Cortex Corticotrophin-Releasing Factor Receptor 1 Conveys Acute Stress-Induced Executive Dysfunction. *Biological psychiatry*. 2016;80(10):743-53.
69. Jaferi A, Bhatnagar S. CORTICOTROPIN-RELEASING-HORMONE RECEPTORS IN THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX REGULATE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL ACTIVITY AND ANXIETY-RELATED BEHAVIOR REGARDLESS OF PRIOR STRESS EXPERIENCE. *Brain research*. 2007;1186:212-23.
70. Snyder K, Wang WW, Han R, McFadden K, Valentino RJ. Corticotrophin-releasing factor in the norepinephrine nucleus, locus coeruleus, facilitates behavioral flexibility. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2012;37(2):520-30.
71. Valentino RJ, Van Bockstaele E. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. *European journal of pharmacology*. 2008;583(2-3):194-203.
72. Kageyama K. Regulation of gonadotropins by corticotrophin-releasing factor and urocortin. *Frontiers in Endocrinology*. 2013;4(12).
73. Schneider F, Tomek W, Grundker C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review. *Theriogenology*. 2006;66(4):691-709.
74. Fink G. *Encyclopedia of Stress*: Elsevier Science; 2007.
75. Claes SJ. Corticotrophin-releasing hormone (CRH) in psychiatry: from stress to psychopathology. *Annals of medicine*. 2004;36(1):50-61.
76. Kasckow JW, Baker D, Geraciotti TD, Jr. Corticotrophin-releasing hormone in depression and post-traumatic stress disorder. *Peptides*. 2001;22(5):845-51.

77. Heilig M, Koob GF. A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. *Trends in neurosciences*. 2007;30(8):399-406.
78. Dirks A, Groenink L, Bouwknecht JA, Hijzen TH, Van Der Gugten J, Ronken E, et al. Overexpression of corticotropin-releasing hormone in transgenic mice and chronic stress-like autonomic and physiological alterations. *The European journal of neuroscience*. 2002;16(9):1751-60.
79. Roedel A, Storch C, Holsboer F, Ohl F. Effects of light or dark phase testing on behavioural and cognitive performance in DBA mice. *Laboratory animals*. 2006;40(4):371-81.
80. Jacobson L, Muglia LJ, Weninger SC, Pacak K, Majzoub JA. CRH deficiency impairs but does not block pituitary-adrenal responses to diverse stressors. *Neuroendocrinology*. 2000;71(2):79-87.
81. Venihaki M, Majzoub J. Lessons from CRH knockout mice. *Neuropeptides*. 2002;36(2-3):96-102.
82. Grammatopoulos DK, Chrousos GP. Functional characteristics of CRH receptors and potential clinical applications of CRH-receptor antagonists. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2002;13(10):436-44.
83. Wong ML, Webster EL, Spokes H, Phu P, Ehrhart-Bornstein M, Bornstein S, et al. Chronic administration of the non-peptide CRH type 1 receptor antagonist antalarmin does not blunt hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to acute immobilization stress. *Life sciences*. 1999;65(4):PI53-8.