

## **Alterações fisiopatológicas associadas ao stress – Implicações na doença**

Joel Coelho Marques, Anabela Mota Pinto<sup>1,2,3</sup>, João Figueira<sup>4,5,6</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Patologia Geral – Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra (FMUC), Portugal.

<sup>2</sup> Centro de Investigação em Meio-Ambiente, Genética e Oncobiologia (CIMAGO), FMUC, Portugal.

<sup>3</sup> Consórcio Centro de Neurociências e Biologia Celular e Instituto de Imagem Biomédica e Ciências da Vida (CNC.IBILI), Universidade de Coimbra, Portugal.

<sup>4</sup> Departamento de Oftalmologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), Coimbra, Portugal.

<sup>5</sup> Associação para Investigação Biomédica e Inovação em Luz e Imagem (AIBILI), Coimbra, Portugal.

<sup>6</sup> FMUC, Coimbra, Portugal.

### **E-mail:**

Joel Marques: joelcmarques25@gmail.com

Professora Doutora Anabela Mota Pinto: apinto@uc.pt

Professor Doutor João Figueira: joaofigueira@oftalmologia.co.pt

## Índice

Resumo .....	3
<i>Abstract</i> .....	5
Palavras-Chave.....	7
<i>Keywords</i> .....	7
Lista de abreviaturas .....	8
1. Introdução .....	10
2. Material e Métodos .....	12
3. O sistema neuroimunoendócrino – Uma rede complexa de conexões na resposta ao <i>stress</i> .....	15
3.1. A importância do HPA como intermediário principal.....	17
3.2. A resposta mediada pelo sistema nervoso central, a sua adaptação e consequências da exposição ao <i>stress</i> .....	23
3.3. A glândula suprarrenal, os glicocorticóides e os seus efeitos sistêmicos....	34
3.4. Alterações imunológicas relacionadas com o <i>stress</i> .....	42
3.5. As catecolaminas e os seus efeitos. ....	46
3.6. O papel do <i>stress</i> no desenvolvimento e as suas diferenças entre sexos....	50
3.7. Genética e epigenética da resposta ao <i>stress</i> .....	54
3.8. Patologias associadas ao <i>stress</i> .....	59
3.9. Breve referência ao <i>stress</i> oxidativo e à sua relação com o <i>stress</i> psicológico 64	
4. Discussão e Conclusão .....	66
5. Referências.....	73

## Resumo

O *stress* é uma entidade presente no quotidiano de pacientes de qualquer médico, e dada a sua enorme abrangência em termos de mecanismos de resposta e das suas consequências no organismo, procedeu-se a uma revisão bibliográfica nesta área científica de forma a ter um conhecimento atual e globalizante dos principais efeitos fisiopatológicos do *stress* no organismo e sobre o seu impacto final no desenvolvimento de diversas patologias.

Para tal realizou-se uma pesquisa selecionada na plataforma PubMed com diversos termos diretamente relacionados com o *stress* e com a sua fisiopatologia e procurou-se apenas utilizar os artigos mais recentes dentro da matéria de forma a ter a informação o mais atualizada possível.

O objetivo principal deste trabalho, foi proceder a revisão do sistema neuro-imuno-endócrino como uma entidade que engloba praticamente todos os processos envolvidos na resposta ao *stress*, e neste grande sistema procedeu-se à análise da importância do eixo Hipotálamo-Hipófise-Supra-Renal; da resposta mediada pelo Sistema Nervoso Central; da glândula suprarrenal e os glicocorticóides; das alterações imunológicas associadas ao *stress*; das catecolaminas e os seus efeitos; do papel do *stress* no desenvolvimento e diferenças entre sexos; da genética e epigenética da resposta ao *stress*; das patologias associadas fazendo-se uma breve referência ao *stress* oxidativo.

Com esta recolha de informação conseguiu-se chegar a diversas conclusões. Entre elas, que o eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal, possui um mecanismo de habituação ao *stress*, importante para redução da sua resposta em exposição crónica. Diversos neurónios do sistema nervoso central sofrem atrofia com a exposição ao *stress*, tendo consequências ao nível da plasticidade neuronal. Por outro lado, os glicocorticóides em termos agudos possuem um efeito maturador de diversos neurónios ajudando na consolidação de memórias, sendo no entanto dos principais mediadores das alterações causadas pelo *stress*. Apesar do seu efeito

maioritariamente imunossupressor constatou-se uma tendência para o desenvolvimento de patologia autoimune na exposição ao *stress*. A exposição pré-natal demonstrou ter efeitos a longo prazo no feto, sobretudo nos do sexo masculino. Verificou-se ainda uma suscetibilidade a diversas doenças, bem como uma potenciação do *stress* oxidativo pelo *stress* psicológico.

Como perspectivas futuras analisam-se vias de investigação para melhorar a gestão, quer das consequências da resposta ao *stress*, quer do próprio *stress* em si e diminuí-los conseqüentemente, sendo de vital importância para a evolução da saúde, passando não só por terapêuticas medicamentosas, mas também por imensas terapêuticas comportamentais.

## ***Abstract***

*Stress is an entity that is present in every doctor's patient's daily life and has several response mechanisms and consequences in the organism. Because of that, this review collects some of the several existing information on the field so that we can have an overview on the main physiopathologic effects of the stress in the human body and its impact in the susceptibility to several diseases.*

*In order to do that, it was necessary to make a search on PubMed with several stress and stress physiopathology related terms and to look for the most recent papers on the issue to have the most up to date information.*

*The main goal of this review is to explore the neuro-immune-endocrine system as an own entity that gathers almost all the processes related to the stress response and inside this main topic developing other smaller topics like the role of the Hypothalamo-pituitary-adrenal axis; the central nervous system mediated response; the adrenal gland and the glucocorticoids; the stress related immune changes; the catecholamines and its effects; the role of the stress in the development and its gender differences; the genetics and epigenetics of the stress response; the stress related pathologies and a short reference to the oxidative stress.*

*This review reached several conclusions. Being them, the fact that the Hypothalamo-pituitary-adrenal axis has a stress adaptation mechanism, which is important to the reduction of its chronic exposition response. Several central nervous system neurons suffer atrophy with stress exposure, thus being related to several neural plasticity changes. On the other side, acute glucocorticoid exposure is important to the maturation of several neurons and helps in the memory consolidation and formation processes, but besides that, the glucocorticoids are the main mediators of the stress related pathological changes. Despite its main immune suppressor effects stressed individuals present a tendency to develop autoimmune diseases.*

*Pre-natal stress exposition has showed to have long term effects on the fetus and mainly in the male ones. And it still verified the susceptibility to several pathologies in stressed individuals as well as a synergic effect on the oxidative stress caused by the psychological stress.*

*The gathered information reached many other conclusions and showed several possible future research pathways to improve the stress and its consequences management and to decrease them, and those are of vital importance to the health development as well in medical therapeutics as in behavioral changes.*

## **Palavras-Chave**

Neuroendocrinologia; Hormonas do *stress*; *Stress*, fisiológico/fisiologia; Sistema hipotálamo-hipofisário/metabolismo; Sistema Hipófise-supra-renal/metabolismo; *Stress* psicológico/metabolismo; Ansiedade/metabolismo; Glicocorticóides/metabolismo; *Stress* oxidativo.

## ***Keywords***

*Neuroendocrinology; Stress hormones; Stress, Physiological/physiology; Hypothalamo-Hypophyseal System/metabolism; Pituitary-Adrenal System/metabolism; Stress, Psychological/metabolism; Anxiety/metabolism; Glucocorticoids/metabolism; Oxidative stress.*

## Lista de abreviaturas

ACC – núcleo *accumbens*;

ACTH – adrenocorticotropina;

AMPA – ácido  $\alpha$ -amino3-hidroxi5-metil4-isoxazolepropionico;

BHE – barreira hemato-encefálica;

CaM – proteína dependente da calmodolína;

CBG – *cortisol binding globulin* CCK – colecistocinina;

cGMP – guanosinamonofosfato cíclica; CPF(m) – córtex pré-frontal (medial);

CRH – hormona libertadora da corticotropina;

CRHR1 – recetor 1 da CRH; D1 – recetor 1 da dopamina;

eNOS – óxido nítrico sintetase endotelial;

GABA – ácido gamaaminobutírico;

GAD<sub>(65)</sub> – ácido glutâmico descarboxilase (65);

GLU – glutamado;

GR – recetor glucocorticoide;

HPA – eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal;

Hsp60 – *heat-shock protein* 60;

HTA – hipertensão arterial;

IA-2 – antigénio das ilhotas de Langerhans 2;

IL – interleucina;

CIPS – corrente inibitória pós-sináptica;

MAP – proteína mitogénica ativada;

MR – recetor mineralocorticoide;

NCAM – molécula de adesão da célula neuronal

NF- $\kappa$ B – fator nuclear potenciador de cadeias leves kappa;



NMDA – N-metil-D-aspartato;

NO – óxido nítrico;

NPY – neuropeptídeo Y;

PAMPs – padrões moleculares associados ao patogénio;

(PSA)-NCAM – (forma polisialisada) da molécula de adesão de células neuronais;

PSPT – perturbação do *stress* pós-traumático;

PVN – núcleo paraventricular do hipotálamo;

ROS – espécies reativas de oxigénio;

SNA – sistema nervoso autónomo;

SNAP – S-nitroso-N-acetilpenicilamina;

SNC – sistema nervoso central;

SNP – sistema nervoso periférico;

SR – glândula suprarrenal;

StAR – proteína esteroidogénica aguda reguladora;

Th – linfócito T *helper*;

Tr – linfócito T regulador.

**Nota** - Algumas siglas foram adotadas do inglês, embora com a tradução portuguesa, por se entender que cientificamente eram mais conhecidas.

## 1. Introdução

Por *Stress* entende-se todo o processo ou série de processos que provoquem uma alteração da homeostasia, sendo necessária uma resposta adaptativa do organismo de forma a recuperar a mesma.(1) Os agentes que induzem *stress* podem ser emocionais/psicológicos ou fisiológicos. Como exemplos de *stress* emocional ou psicológico temos: problemas interpessoais, término de uma relação, luto e desemprego e como exemplos de *stress* fisiológico temos: fome, insónia, hipo- e hipertermia, efeitos do uso de drogas psicoativas e sua privação e ainda doenças crónicas e intervenções cirúrgicas.(2)

Desta forma o *stress* permite a sobrevivência em situações de luta ou fuga, ou como verificado na literatura inglesa, *fight or flight*, contudo elevados níveis de exposição ao *stress* ou uma exposição crónica a este, levam a efeitos deletérios no organismo, devido a uma carga alostática contínua, provocando uma desregulação neural, metabólica e comportamental que sai do intervalo homeostático em que o organismo se tenta manter.(1)

Estas alterações são sentidas em diversos órgãos e sistemas, nomeadamente: o sistema cardiovascular, com consequências como a hipertensão arterial (HTA), alterações do ritmo cardíaco e enfarte agudo do miocárdio, o sistema músculo-esquelético, com cefaleias de tensão e lombalgias, o sistema pulmonar com asma, o sistema imunitário com imunodeficiências, o sistema gastrointestinal com úlceras pépticas, colite ulcerosa e síndrome do intestino irritável, o sistema genito-urinário com disfunções na diurese, disfunção erétil e impotência ou frigidez, o sistema endócrino, com amenorreia, fadiga, letargia e *Diabetes Mellitus*, o sistema nervoso central (SNC), com alterações do apetite, insónia, depressão, ansiedade, convulsões, amnésia, falta de concentração, fadiga e letargia e a pele, com diversos sinais de atopia, como eczema, alergias, seborreia do couro cabeludo e também acne.(3)

A resposta do organismo ao *stress* é integrada numa rede complexa do sistema nervoso central, constituída pelo córtex cerebral, o sistema límbico, o tálamo, o hipotálamo e

a formação reticular. Por sua vez estas estruturas permitem que através da hormona libertadora da corticotropina (CRH) e do sistema *locus coeruleus* – sistema nervoso simpático (SNS) seja expressa uma resposta quer a nível do SNC quer a nível periférico.<sup>(3)</sup> Contudo esta resposta apresenta ainda imensas lacunas por explicar, quer sobre o seu funcionamento, quer sobre os seus efeitos nos diversos órgãos e sistemas do organismo humano. Sabe-se que o *stress* provoca alterações em praticamente todos os órgãos e sistemas, mas em muitos casos a implicação direta destas alterações com o *stress* não está provada, ou estando esta conexão provada falta compreender todo o mecanismo que as desencadeia. Existe também uma considerável falta de estudos no ser humano para provar que muitos efeitos presenciados em animais também serão aplicáveis ao Homem. O facto de a resposta ao *stress* ser muito variável de indivíduo para indivíduo e também as inúmeras questões éticas que podem estar implicadas neste estudo, dificultam a investigação sobre os efeitos fisiopatológicos do *stress* no ser humano.

O objetivo deste trabalho de revisão foi recolher informação da literatura que fosse de encontro às lacunas acima referidas, focando-nos no sistema neuro-imuno-endócrino, sobretudo nos efeitos do *stress* no SNC, no papel do eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal (HPA), nas consequências do *stress* no desenvolvimento e crescimento humanos e suas diferenças entre sexos, nos seus impactos em termos de patologia, terminando com uma breve análise dos efeitos do *stress* oxidativo no organismo.

## 2. Material e Métodos

A pesquisa para realização deste trabalho foi realizada entre outubro de 2015 e janeiro de 2016 na plataforma PubMed utilizando os termos “*Stress*”, “*stress cardiovascular*”, “*stress immune endocrine system*”, “*stress Hypothalamo-pituitary-adrenal axis*”, “*stress epinephrine*”, “*stress physiopathology*”, “*oxidative stress*” e “*oxidative stress inflammation*”. Foram apenas pesquisados artigos publicados nos últimos 5 anos, com acesso a texto integral gratuito, quer na directamente na plataforma PubMed, quer por requisição destes aos autores, e com uma ordenação da pesquisa por relevância. Para além disso, por se terem revelado úteis foram utilizados alguns artigos referenciados em artigos pesquisados, aos quais também se obteve acesso ao seu texto integral, bem como o capítulo sobre Fisiopatologia do Stress de João Figueira no livro Fisiopatologia – Fundamentos e Aplicações de Anabela Mota Pinto e o capítulo de Endocrinologia do livro Harrison’s Principles of Internal Medicine.

Para inclusão dos artigos pesquisados foram seleccionados artigos orientados para a medicina humana, mesmo que realizados em animais, artigos que abordassem sempre uma vertente biológica do *stress* e não apenas psicológica e/ou psicossocial e artigos em inglês ou português. A Tabela 1 inclui os critérios de inclusão de artigos na pesquisa realizada.

Apesar de não ser critério de inclusão foi tido em conta o fator de impacto das diversas revistas na plataforma *webofknowledge.com*.

Os detalhes da pesquisa são expostos na Tabela 2.

---

**Critérios de inclusão e de exclusão de artigos na pesquisa bibliográfica**

---

<b>Inclusão</b>	<b>Exclusão</b>
<b>Artigo publicado nos últimos 5 anos no momento da pesquisa</b>	Artigos publicados há mais de 5 anos no momento da pesquisa, com exceção de referências a artigos pesquisados que se revelaram pertinentes para complemento de informação.
<b>Artigo disponível em Inglês ou Português</b>	Artigos em línguas que não inglês ou português
<b>Artigo sobre estudo realizado em humanos ou sobre o <i>stress</i> no ser humano</b>	Artigos sobre <i>stress</i> em Plantas
<b>Artigo sobre estudo realizado em animais, com vista a futura aplicação no ser humano.</b>	Artigos sobre estudo realizado em animais, não tendo em vista qualquer aplicação futura no ser humano
<b>Artigo que aborde o <i>stress</i> numa vertente biológica, fisiológica e/ou fisiopatológica</b>	Artigos que abordem o <i>stress</i> apenas numa vertente psicológica ou psicossocial.
<b>Texto integral disponível e gratuito, quer na plataforma PubMed, quer por disponibilização pelo autor após requisição do mesmo.</b>	Texto integral não disponível, através da plataforma PubMed ou por recusa do autor após requisição de texto integral.

---

**Tabela 1 - Critérios de inclusão e de exclusão de artigos na pesquisa bibliográfica.**

---

**Detalhes da Pesquisa Bibliográfica**

---

("Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND ("loattrfree full text"[sb] AND "2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

"oxidative stress"[All Fields] AND (("Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND ("inflammation"[MeSH Terms] OR "inflammation"[All Fields])) AND ("loattrfree full text"[sb] AND "2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

"Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND ("cardiovascular system"[MeSH Terms] OR ("cardiovascular"[All Fields] AND "system"[All Fields]) OR "cardiovascular system"[All Fields] OR "cardiovascular"[All Fields]) AND ("loattrfree full text"[sb] AND "2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

("Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND Immune[All Fields]) AND ("endocrine system"[MeSH Terms] OR ("endocrine"[All Fields] AND "system"[All Fields]) OR "endocrine system"[All Fields] OR "endocrine"[All Fields]) AND ("loattrfree full text"[sb] AND "2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

"Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND (Hypothalamo-pituitary-adrenal[All Fields] AND ("axis, cervical vertebra"[MeSH Terms] OR ("axis"[All Fields] AND "cervical"[All Fields] AND "vertebra"[All Fields]) OR "cervical vertebra axis"[All Fields] OR "axis"[All Fields])) AND ("loattrfree full text"[sb] AND "2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

("Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND ("epinephrine"[MeSH Terms] OR "epinephrine"[All Fields] OR "adrenaline"[All Fields]) AND ("2011/01/10"[PDat] : "2016/01/08"[PDat])

((("Stress"[Journal] OR "stress"[All Fields]) AND ("physiopathology"[Subheading] OR "physiopathology"[All Fields])) AND (Review[ptyp] AND "loattrfree full text"[sb] AND "2011/02/05"[PDat] : "2016/02/03"[PDat]))

---

**Tabela 2 - Detalhes da Pesquisa Bibliográfica:** informação detalhada sobre os termos utilizados na plataforma PubMed para realização da pesquisa Bibliográfica

### **3. O sistema neuroimunoendócrino – Uma rede complexa de conexões na resposta ao *stress***

A resposta ao *stress* é mediada por diversas hormonas, entre elas as hormonas esteroides, para as quais existem recetores em regiões do cérebro e que medeiam todas as funções neuronais superiores. O cérebro é o principal órgão da resposta ao *stress* e da sua adaptação, uma vez que reconhece as ameaças e determina as respostas comportamentais e fisiológicas a agentes stressantes.(4)

Graças à sua plasticidade quer estrutural, quer funcional o cérebro permite que processos como a reposição neuronal, a regeneração dendrítica e o *turnover* de sinapses sejam possíveis, controlando o desequilíbrio causado pelo *stress*, desequilíbrio o qual, pode causar alterações cognitivas, afectar tomadas de decisão, provocar distúrbios de ansiedade e alterações do humor, afectando a resposta fisiológica através de vias neuronais, endócrinas, imunes, autonómicas e metabólicas.(4)

O *stress* influencia a libertação de hormonas esteroides que por sua vez irão atuar em dois tipos de recetores: os recetores mineralocorticóides (MR) e os recetores glicocorticóides (GR), onde as hormonas se irão ligar intracelularmente afetando a transcrição de inúmeros genes. Para além disso as hormonas esteroides também terão um efeito de *feedback* negativo no HPA, de forma a incluir efeitos das hormonas esteroides noutras funções cerebrais, tais como a memória, o processo de aprendizagem, o controlo de emoções e outros processos comportamentais.(5)

Está também provado que uma resposta crónica ao *stress*, conduz a uma imunossupressão inespecífica, provavelmente provocada pelo hipercortisolismo. Está demonstrada uma associação do *stress* com o aparecimento de linfopenia, monocitopenia, eosinopenia e inibição da fixação dos leucócitos aos locais de inflamação.(3) A presença nos linfócitos de recetores para neuromediadores, hormonas esteroides, insulina, catecolaminas,

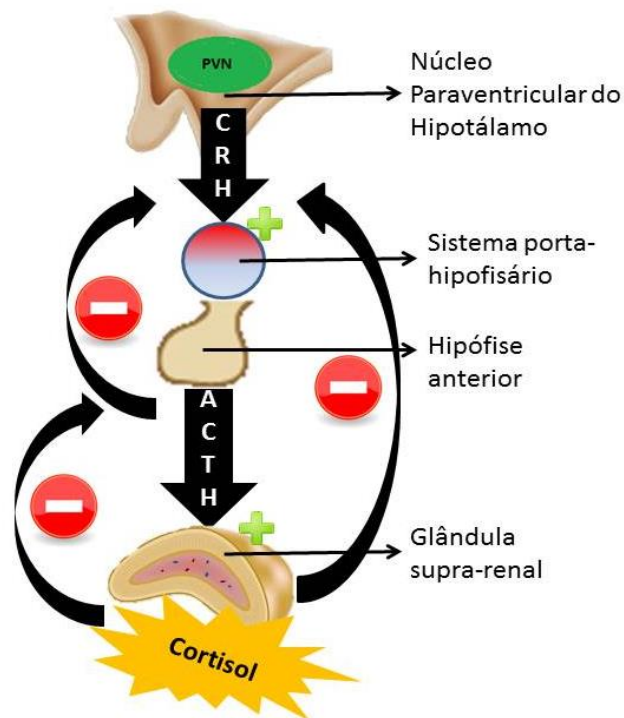
acetilcolina, histamina e hormonas do crescimento são evidência de uma complexa conexão entre os sistemas nervoso, imunitário e endócrino, levando a que estes sejam abordados como um só.<sup>(3)</sup>



### **3.1. A importância do HPA como intermediário principal.**

A ativação do HPA constitui o protótipo da resposta ao *stress*, sendo esta, em conjunto com algumas outras respostas fisiológicas, como os níveis plasmáticos de prolactina, adrenalina e glicose, um dos marcadores mais fiáveis até à data para avaliação do efeito de determinado agente stressante no organismo.(6)

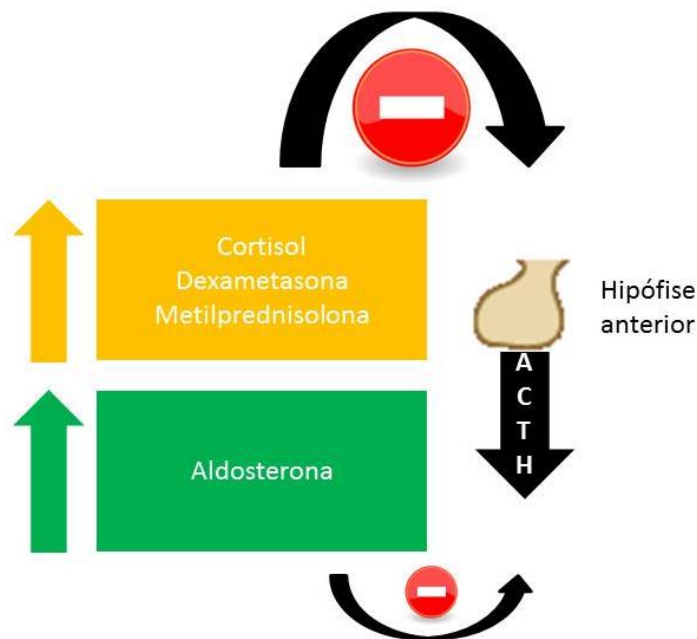
Como o próprio nome indica este eixo inclui toda uma série de interações entre o hipotálamo, nomeadamente através do núcleo paraventricular (PVN), onde a CRH é produzida por neurónios parvocelulares. O hipotálamo envia então projeções axonais para o sistema porta-hipofisário, onde a CRH e outros peptídeos como a vasopressina, também secretada no PVN são lançadas na corrente e irão atuar na hipófise anterior, outro órgão chave deste eixo, promovendo a síntese e libertação de ACTH. Por sua vez a ACTH circulante irá atuar no último órgão chave deste eixo, a glândula suprarrenal (SR), onde irá estimular a produção e libertação de glicocorticóides pelo córtex da mesma (Fig.1).(6)



**Figura 1 - O HPA e os seus mecanismos intrínsecos de *feedback* negativo.** A CRH é produzida em neurónios parvocelulares do PVN do hipotálamo, que enviam projecções para o sistema porta-hipofisário. A CRH irá estimular a produção de ACTH na hipófise anterior, que por sua vez irá promover a produção e libertação de cortisol no córtex da SR. A ACTH possui também um efeito de *feedback* negativo sobre a produção de CRH. O cortisol irá por sua vez exercer *feedback* negativo sobre a produção de CRH e ACTH

Como referido anteriormente, o HPA sofre um efeito de *feedback* negativo por parte das hormonas esteroides, nomeadamente glicocorticóides. Existem dois tipos de *feedback*, um tardio que controla as alterações a longo prazo da produção de CRH no PVN e de ACTH na hipófise, pelas células corticotróficas, e um a curto prazo, de rápida ação, mediado por elevadas concentrações agudas de corticosteroides ou de agonistas, como a metilprednisolona ou a dexametasona, que atuam nos GR, levando a um rápido início de descida dos valores plasmáticos de ACTH (Fig.2).<sup>(7)</sup> Agonistas dos MRs, como a aldosterona, também

mostraram terem um efeito de *feedback* negativo de rápida ação sobre o HPA, sendo contudo significativamente inferior ao provocado pelos agonistas-GR (Fig.2).(8)

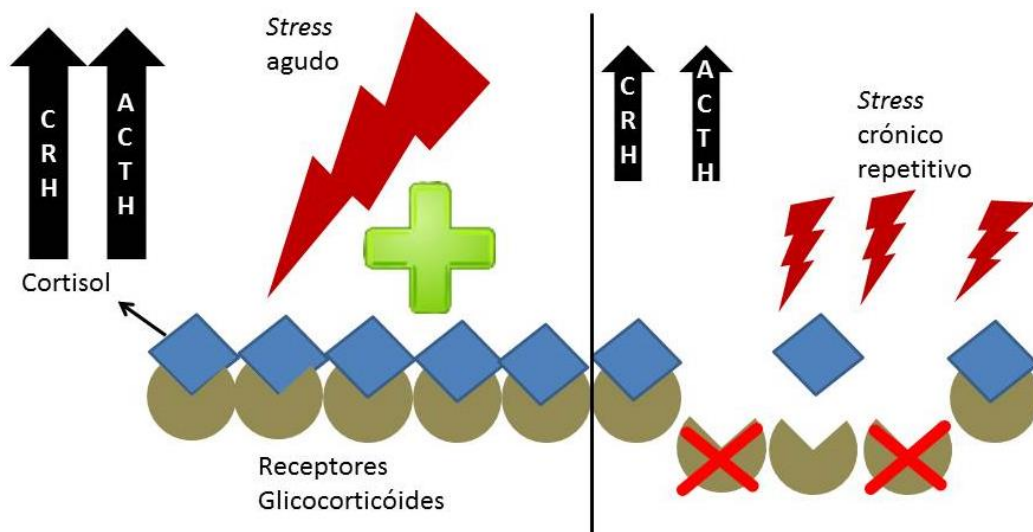


**Figura 2 - Mecanismos de *feedback* negativo de ação rápida sobre o HPA.**

Elevadas concentrações de glicocorticóides ou de agonistas GR exercem um forte efeito de *feedback* negativo sobre o HPA. A aldosterona como agonista MR possui um efeito menos pronunciado.

O HPA é ativado em resposta aos vários tipos de *stress*, desde o fisiológico, ao emocional e ao *stress* com uma componente mista, sendo que devido aos seus diversos fatores de variação, o *stress* emocional e a sua resposta são muito mais difíceis de avaliar de uma forma quantitativa que o *stress* fisiológico.(6) De forma a colmatar esta dificuldade tem-se procurado distinguir quais os melhores marcadores para a resposta ao *stress* emocional e chegou-se à conclusão que juntamente com a atividade do HPA, a medição dos níveis plasmáticos de prolactina, glucose e adrenalina seriam bons marcadores da resposta ao *stress* emocional.(6, 9)

Como já referido anteriormente, a presença de uma resposta crónica ao *stress* tem efeitos deletérios para o organismo. Uma das formas de defesa contra esta resposta crónica, sobretudo em situações de *stress* emocional, passa pela redução da resposta do HPA a um mesmo estímulo stressante contínuo e/ou repetido, sendo este processo designado por adaptação ou habituação do HPA (Fig.3), a qual ocorre também nos restantes marcadores de resposta ao *stress* emocional acima referidos. (10)



**Figura 3 - Resposta do HPA ao *stress* agudo vs mecanismo de habituação do HPA ao *stress* crónico** – Em resposta ao *stress* agudo temos aumentos das hormonas CRH, ACTH e cortisol, seguidos da activação em massa dos GRs nos diversos tecidos. No mecanismo de habituação do HPA, a quando da sua exposição ao *stress* crónico e repetitivo, verificam-se menores aumentos de CRH, ACTH e cortisol, bem como uma redução da sensibilidade e quantidade dos GRs ao cortisol.

Esta adaptação, contudo, nem sempre é conseguida, e para isso é preciso ter em conta que um agente stressante sistémico é algo que coloca a vida em risco imediato, como uma hipovolémia ou uma infeção, sendo necessária uma resposta rápida e eficaz, mesmo que a exposição a esse mesmo estímulo ocorra de forma repetitiva. Por outro lado um agente stressante emocional não representa uma ameaça imediata à vida, mas apenas a possibilidade

de esta vir a acontecer, podendo por vezes esta distinção não ser totalmente clara, sendo uma das hipóteses levantadas para esta ausência de adaptação.(10) Um fator que torna difícil a melhor compreensão desta distinção entre as respostas é o facto de em laboratório os testes realizados incluírem sempre um componente físico do *stress*, como a dor ou hipotermia, a qual apesar de não ser ameaçadora da vida dificulta a interpretação dos resultados obtidos.(10)

Pensa-se que a habituação, uma vez que esta acontece sobretudo em situações de *stress* emocional, seja devida a uma assimilação pelo organismo de ausência efetiva de ameaça à integridade física, levando a que seja ativado um sinal inibitório de segurança do indivíduo, fazendo a resposta a esse estímulo diminuir. Contudo caso haja um novo estímulo de *stress* concomitantemente com o anterior (o estímulo considerado habitual), será despoletada uma nova resposta ao *stress*, sem os efeitos de habituação.(11) Existe ainda uma grande falta de estudos pormenorizados no homem para melhor fundamentação desta hipótese. Supõe-se, no entanto, que este processo se trate de uma adaptação evolutiva, onde inicialmente o agente stressante emocional é interpretado pelo organismo como uma possível ameaça à sua homeostasia, vindo mais tarde a perceber que a ameaça não é real, ativando-se assim um sinal de segurança que promove o processo de habituação. É para isso importante que o estímulo de *stress* esteja presente durante tempo suficiente sem causar qualquer dano à homeostasia, para que haja uma diminuição da resposta do HPA como adaptação a um agente stressante fisiologicamente inofensivo.(10)

Sobre o processo de habituação sabe-se que a resposta das SRs, reduz com o número de exposições a um mesmo estímulo, mesmo não se notando uma significativa diminuição dos valores de ACTH, sugerindo a existência de inervação neuronal da SR com capacidade de controlo sobre a sua resposta.(12) Provou-se também que basta um evento de *stress* suficientemente forte para provocar um efeito de habituação que tenha efeito a longo prazo

com uma menor reação a uma nova exposição ao mesmo agente stressante, não havendo grande diferença quando comparado com grupos que foram expostos repetidamente a esse mesmo agente. A duração da habituação é a mesma e a diminuição da resposta do HPA é residual em comparação ao grupo que apenas sofreu uma exposição única ao mesmo agente.(10) Há no entanto que ter em conta que, para provocar o fenómeno de habituação, o estímulo terá que atingir uma determinada intensidade. Estímulos muito fracos necessitam de uma exposição mais prolongada e repetida para atingir uma adaptação máxima enquanto estímulos mais intensos terão um efeito de habituação mais eficaz como forma de proteção do organismo.(10)

### **3.2. A resposta mediada pelo sistema nervoso central, a sua adaptação e consequências da exposição ao *stress***

O SNC é o principal modulador da resposta ao *stress*, tendo já sido demonstrado através de estudos funcionais neuroanatômicos o envolvimento de estruturas como o cortex pré-frontal medial (CPFm), o hipocampo, o septo e o tálamo paraventricular.(13) Para além destas estruturas temos o hipotálamo considerado fulcral no SNC e na ativação da resposta ao *stress*. Como já referido anteriormente, os neurónios responsáveis pela ativação do HPA emergem do PVN do hipotálamo, o qual se encontra preparado para coordenar as respostas autonómica, neuroendócrina e comportamental em situação de *stress*. O PVN consiste num grupo de neurónios em forma de asa ao longo da porção dorsal do terceiro ventrículo, na região anterior do hipotálamo.(14)

Os neurónios do PVN podem ser divididos funcionalmente em três grandes tipos. Em primeiro lugar temos os neurónios neurosecretores parvocelulares, que enviam os seus axónios para a zona externa da eminência mediana, onde secretam fatores de libertação hormonal, como a CRH e a vasopressina, anteriormente já referido e que também têm um efeito estimulante sobre o HPA. Estas hormonas libertadas no sistema porta-hipofisário irão estimular a produção hormonal pela hipófise anterior, nomeadamente de ACTH. Em segundo lugar temos os neurónios neurosecretores magnocelulares, com projeções para os capilares fenestrados da hipófise posterior, onde libertam hormonas diretamente para a corrente sanguínea como a vasopressina ou a oxitocina. Por último temos os neurónios de projeções longas que enviam os seus axónios para o tronco cerebral e medula espinhal, estando envolvidos no controlo autonómico, nomeadamente da resposta autonómica ao *stress*.(14) O controlo do sistema nervoso autónomo (SNA) faz-se através de comunicações com os núcleos ponto-medulares, núcleo da *Raphe* e *Locus Coeruleus*. Estas áreas expressam elevados níveis de CRH imunorreativa e de recetores da CRH (CRHR1).(15)

Outra região onde a CRH e o CRHR1 também se expressam, é a amígdala expandida, que engloba o núcleo do leito da estria terminal, os núcleos central, basolateral e medial da amígdala, o hipocampo, a insula e o núcleo *accumbens* (ACC) medial. Estas estruturas formam uma interface de comunicação entre o córtex pré-frontal (CPF), o córtex cingulado, a parte endócrina do hipotálamo e as vias de recompensa do *striatum*. Permitem também uma regulação autonómica entre o tronco cerebral e o sistema nervoso periférico (SNP).(15)

O CPF tem um papel fulcral na regulação da resposta ao *stress*, começando a existir evidência de que os lados esquerdo e direito do CPF desempenham diferentes funções em termos de resposta comportamental, neuroendócrina e autonómica a estímulos de *stress*, dependendo da gravidade e duração do agente stressante, bem como a possibilidade de este ser alterado externamente.(16) Esta diferença de resposta implica que exista uma estreita comunicação entre os dois hemisférios, sendo esta comunicação feita sobretudo através de neurónios calosais e de neurónios piramidais que contêm glutamato (GLU) e enviam projeções homotópicas para o CPF contralateral, levando a um aumento da concentração de GLU no CPF numa resposta inicial ao *stress*, devido à libertação pelos neurónios calosais vindos do CPF do hemisfério contralateral.(17)

Estes dados sugerem que os neurónios calosais possuem um papel fundamental na diferenciação do CPF na mediação da resposta ao *stress*, pensando-se que a disrupção desta comunicação possa estar envolvida na criação de respostas mal-adaptativas ao *stress*, como o aparecimento de alterações morfológicas a nível neuronal.(16)

Existem dados que demonstram que a exposição prolongada ao *stress* provoca alterações morfológicas nas dendrites apicais de neurónios piramidais do CPF, nomeadamente nas regiões pré-límbica e infralímbica. Estas alterações consistem sobretudo numa retração dendrítica, empobrecimento das ramificações dendríticas e reduzida densidade espinhal das dendrites apicais.(17) Luczynski provou que estas alterações também se aplicavam aos



neurónios calosais responsáveis pelas comunicações interhemisféricas entre os CPF direito e esquerdo. Sendo os processos de resposta ao *stress* em ambos os hemisférios distintos, mas complementares, é essencial que o processo de comunicação interhemisférica esteja íntegro, de forma a uma eficaz resposta ao *stress*.(16)

As especializações hemisféricas do CPF devem-se a assimetrias funcionais inerentes dependentes de mecanismos sensíveis à dopamina destas regiões do córtex.(16)

Para além da comunicação interhemisférica, também os neurónios calosais são ativados pela libertação de GLU, assimetricamente modulada por dopamina, muito provavelmente atuando em recetores D1 em interneurónios e terminais locais ácido gamaaminobutírico (GABA).(17)

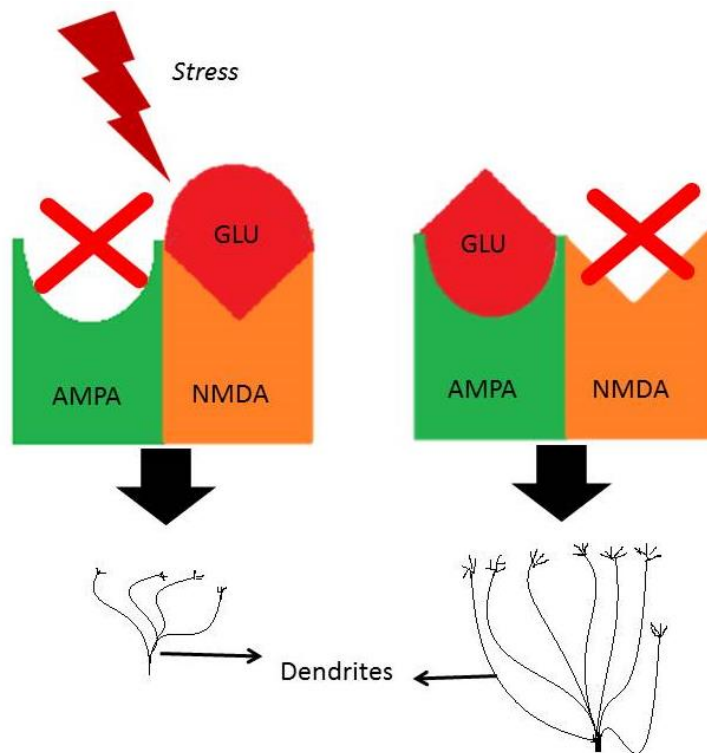
De referir que estas alterações morfológicas não se manifestam de forma homogénea nos diferentes neurónios do CPF. Por exemplo, foi demonstrada uma acentuada retração dendrítica induzida por *stress* crónico nos neurónios infralímbicos do CPF que se projetam para o córtex entorrinal, não sendo o mesmo verificado nos neurónios infralímbicos que se projetam para a amígdala basolateral, bem como em contraste com os neurónios pré-límbicos, não foi evidenciada qualquer perda de espinhas dendríticas em neurónios infralímbicos.(16)

Na redução da densidade das espinhas dendríticas existem também variações, onde se observa uma muito superior redução de densidade das espinhas dendríticas finas em comparação com as espinhas dendríticas em forma de cogumelo.(18) Esta diferença funcional assenta no facto das espinhas dendríticas finas serem mais imaturas, instáveis e com maior plasticidade, enquanto as espinhas dendríticas em forma de cogumelo são essenciais para a formação de sinapses excitatórias maduras e de longa duração.(16)

Na região pós-sináptica de ação do GLU encontramos simultaneamente espinhas dendríticas e recetores ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (AMPA) e N-

metil-D-aspartato (NMDA), sendo que a estabilidade destas espinhas dendríticas está dependente da variação da ação do GLU.(19)

A ativação dos recetores NMDA tem estado associada com as alterações morfológicas dendríticas induzidas pelo *stress*, enquanto o seu bloqueio demonstra ter um efeito protetor sob a retração dendrítica (Fig.4), quer em neurónios piramidais do CPF, quer em neurónios do hipocampo.(20) Por outro lado a ativação dos recetores AMPA, por GLU previamente libertado nas sinapses, tem um efeito estabilizador das espinhas dendríticas, levando o seu bloqueio, ou a privação destes de GLU, a uma diminuição da densidade das espinhas dendríticas (Fig.4), sobretudo das espinhas finas, tendo pouco efeito sobre as espinhas dendríticas em forma de cogumelo, abrindo assim uma porta na abordagem ao *stress* crónico, através da atuação nos recetores AMPA de forma a manter a densidade das espinhas dendríticas finas e uma eficiente e não patológica resposta ao *stress* sem diversos sintomas deletérios, como a perda de memória.(21)



**Figura 4 - O efeito do *stress* sobre a ação do GLU nos neurónios piramidais do CPF e do hipocampo.** – A exposição ao *stress* leva à ativação de recetores NMDA e ao bloqueio dos receptores AMPA, que levam a uma retração dendrítica e a uma diminuição da densidade das espinhas dendríticas. Por outro a ativação de receptores AMPA e o bloqueio de receptores NMDA tem um efeito protetor na retração dendrítica e promove a estabilização das espinhas dendríticas.

Apesar da sua menor diminuição de densidade, as espinhas dendríticas em forma de cogumelo também sofrem alterações significativas com a exposição ao *stress* crónico, estando no entanto estas mais relacionadas com a ativação de GR, conduzindo a uma diminuição da sua densidade, tendo sido provado que o *stress* crónico variável diminui a densidade das espinhas dendríticas em forma de cogumelo dos neurónios do CPF que se projetam para o núcleo do leito da estria terminal.(22)

Para além disso sabe-se que existe uma diminuição de dopamina e dos seus recetores D1 em animais sujeitos a *stress* crónico, evidenciando também uma associação da dopamina

com este sistema de alterações morfológicas dendríticas na resposta ao *stress* crónico, uma vez que a ação da dopamina nos recetores D1 e nos neurónios do CPF tem um efeito inibitório da resposta ao GLU por parte dos neurónios calosais.(17) Pensa-se no entanto, que este efeito inibitório seja indireto, através da atuação da dopamina em recetores D1 localizados em interneurónios GABA, que por sua vez sofrem remodelação dendrítica em exposição crónica ao *stress*.(23)

Pensa-se que o *stress* crónico emocional pode também envolver uma diminuição da densidade de interneurónios, nomeadamente na região do hipocampo, havendo uma redução do número de neurónios a expressar parvalbumina, situação que pode estar associada a um aumento da apoptose de interneurónios, tendo esta também sido reportada em neurónios do neocórtex.(24) Uma grande candidata para mediar estas alterações da apoptose é a forma polissializada da molécula de adesão de células neuronais (PSA-NCAM), a qual é francamente expressa em interneurónios do CPF medial, sendo a sua expressão regulada pela atuação do *stress* em áreas como o hipocampo, a amígdala, o córtex piriforme e outras regiões do cérebro.(25) Contudo veio-se a provar que apesar de a sua expressão ser estreitamente regulada pela resposta ao *stress*, mostrou não ter efeito nas alterações morfológicas observadas em interneurónios do CPF.(23) Verificou-se porém que um aumento da molécula de adesão da célula neuronal (NCAM) poderá exercer efeitos neuroprotectores, através de um aumento da adesão celular e da regulação de diferentes cascatas de sinalização intracelular, em situações de *stress*, uma vez que foi constatado uma maior suscetibilidade a alterações comportamentais induzidas por eventos stressantes em ratos com expressão diminuída de NCAM.(26)

Verificou-se porém que existia uma diminuição da expressão da enzima produtora de GABA, a descarboxilase do ácido glutâmico 67 (GAD67), indicando que as conexões

inibitórias do CPFm são também alvos do efeito do *stress* crónico, podendo ter um papel crucial nas alterações cognitivas e comportamentais associadas ao *stress*.(23)

Contrariamente às alterações morfológicas encontradas nos neurónios piramidais do CPF, nos interneurónios não se encontrou uma diminuição da densidade das espinhas dendríticas mas sim uma remodelação neuronal com aumento da arborização dendrítica, em resposta à exposição ao *stress* crónico, podendo estas alterações morfológicas ir de encontro às anteriores, uma vez que tal como a diminuição da densidade das dendrites dos neurónios excitatórios é uma resposta de adaptação a um aumento da atividade excitatória destes mesmos pelo *stress*, o aumento da arborização dendrítica dos interneurónios pode também ser visto com este fim uma vez que se tratam de neurónios GABAérgicos maioritariamente inibitórios.(23) Suspeita-se que estes interneurónios sejam células de Martinotti (células fusiformes, multipolares, com campos dendríticos localizados e axónios longos, presentes na maioria das lâminas do córtex cerebral) e que expressam calbindina, calretinina e somatostatina, nunca expressando neuropeptídeo Y (NPY) nem parvalbumina, os quais atuam sobretudo na extremidade apical da árvore dendrítica dos neurónios piramidais.(27) Uma vez que estes neurónios piramidais sofrem atrofia sobre o efeito do *stress* crónico, pensa-se que a hipertrofia das células de Martinotti seja reativa às diminuições de densidade dendríticas verificadas nos neurónios piramidais principais.(23)

Por outro lado está reportado um crescimento dendrítico em neurónios principais da amígdala lateral e uma atrofia de interneurónios, situação que se pensa estar subjacente a casos de suscetibilidade a distúrbios de ansiedade uma vez que existe um reforço excitatório na resposta ao *stress*.(28)

Outra estrutura, acima referida, com um papel importante na resposta ao *stress* é o ACC, o qual, possui uma grande densidade de neurónios que expressam encefalina (ENC), que enviam projeções para a porção ventral do globo pálido (VP).(29) A ENC é um opióide

endógeno, derivado praticamente apenas do precursor proencefalina, que é um forte candidato a provar a relação entre a exposição crônica ao *stress* e os défices comportamentais daí advindos, nomeadamente a anedonia, existindo evidência que ratos com deficiência de ENC apresentam um perfil exageradamente ansioso, com resposta exacerbada ao *stress*.[\(30\)](#) Na sua ação a ENC atua nos recetores opióides  $\mu$  e  $\delta$ , estando este processo implicado na resposta neuroendócrina ao *stress*, sendo que a libertação de ENC, juntamente com a ativação dos recetores opióides  $\mu$  no ACC e na VP desempenham um papel importante na percepção hedónica do indivíduo, pensando-se que desempenhem um papel atenuante nos efeitos aversivos e ansiogénicos decorrentes da exposição ao *stress*.[\(31\)](#) Foi demonstrado que o mRNA da preproencefalina, sofreu uma redução de densidade no estriado após exposição a *stress* de imobilização repetido, podendo a sua expressão, sobretudo a nível hipotalâmico estar envolvida no processo de habituação ao *stress*.[\(32\)](#)

Em ratos que apresentavam marcados níveis de *stress* houve uma diminuição do mRNA para a ENC, tendo esta diminuição um impacto direto na concentração de ENC no ACC e na VP, e estando estas estruturas implicadas na manutenção do equilíbrio hedónico do indivíduo, pensa-se que uma redução da ENC no ACC e na VP poderá levar a uma interpretação mais aversiva de uma circunstância stressante, pelo indivíduo, podendo potenciar alterações comportamentais e endócrinas.[\(33\)](#)

O fator de transcrição FosB, juntamente com a sua isóforma truncada  $\Delta$ FosB, possui um papel determinante no mecanismo de recompensa natural, sendo que a sua indução no ACC aumenta a sensibilidade aos efeitos de recompensa, estando, por outro lado a sua expressão diminuída, sobretudo no ACC, em casos de depressão. Foi demonstrado que os genes da família Fos têm um efeito modulador, quer positivo, quer negativo, na transcrição do mRNA da preproencefalina, podendo também estes desempenhar um papel importante na resposta ao *stress*.[\(33\)](#)

O hipocampo é outro dos elementos fulcrais no controlo da resposta ao *stress*, estando as suas células principais sob influência direta de glicocorticóides através de GRs e MRs, contudo existe também uma extensa rede de comunicações GABAérgicas por explorar, havendo estudos que reportam um aumento dos níveis de GABA extracelular no hipocampo em situações de exposição a agentes stressantes psicológicos, bem como efeitos na regulação da ácido glutâmico descarboxilase (GAD) e um aumento da magnitude das correntes inibitórias pós-sinápticas (CIPS), devidos a elevados níveis de glicocorticóides.(34)

Neste campo verificou-se que a administração aguda de um agonista GR, como a dexametasona, permite um rápido aumento das CIPS no hipocampo, através de dois mecanismos, sendo eles a ligação a GRs de membrana e através de sinalização retrógrada por NO, tendo-se demonstrado que a inibição da síntese de NO ou o silenciamento da cascata de sinalização do NO levou a um bloqueio deste efeito causado pela dexametasona.(24) A aplicação do dador de NO, S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP), reproduziu o efeito facilitador das CIPSS causado pela dexametasona, dando maior força aos dados acima referidos.(24) A sinalização retrógrada de NO, mediada pela dexametasona leva à ativação uma guanil-ciclase NO-sensível, que leva à produção de cGMP, que por sua vez aumenta a transmissão GABAérgica em neurónios perisomáticos do hipocampo.(35) Este efeito é também reproduzido pela exposição de animais a períodos curtos de *stress* agudo.(24)

Em situações de *stress* crónico existe uma elevada transmissão GABAérgica no hipocampo, a qual na presença da administração de dexametasona não provoca qualquer aumento adicional das CIPSS, havendo, no entanto uma alteração da geração de CIPSS devido à exposição a *stress* crónico, que leva a um défice da sua geração em pulsos rítmicos e espontâneos, sobretudo em neurónios com expressão de parvalbumina.(24) Uma vez que neurónios perisomáticos, como os que expressam parvalbumina ou colescistocinina (CCK), possuem um papel crucial na sincronização das atividades dos neurónios piramidais, através

das suas correntes inibitórias, as alterações induzidas pela exposição ao *stress* crónico nos neurónios que expressam parvalbumina poderá ser responsável por certas manifestações clínicas associadas a este, como é o caso de determinados défices cognitivos ou em patologias psiquiátricas, como é o caso da esquizofrenia.(36)

Adicionalmente existe evidência de que a CCK poderá estar também envolvida na resposta ao *stress*, estando esta ligada ao efeito facilitador das CIPs causado pela dexametasona, tendo a CCK um enorme capacidade de ativação dos neurónios que expressam parvalbumina.(35) A CCK cortical está também elevada em situações de exposição a eventos stressantes.(37)

A administração aguda de glicocorticóides, mostrou também ter um efeito no núcleo basolateral da amígdala, através de um recetor de membrana sensível aos glicocorticóides, que levava a uma libertação de endocanabinóides endógenos que permitem uma consolidação de memórias aversivas ao indivíduo.(38)

Todos os mecanismos fisiológicos acima referidos, envolvendo o hipocampo são de essencial importância para uma resposta emocional e comportamental adequada em eventos de exposição ao *stress*, estando documentado, que a destruição das células do hipocampo, nomeadamente em casos de radiação com vista a tratamentos de tumores cerebrais, conduz a atitudes depressivas e a perdas de memória, sendo estes acentuados em situação de exposição a agentes stressantes.(39)

Ainda no contexto da abordagem às estruturas envolvidas na resposta ao *stress*, há que dar alguma importância ao conjunto de estruturas que constituem a amígdala expandida, sendo elas responsáveis por mecanismos como a formação de memórias, de emoções e de comportamentos motivacionais, desempenhando também um papel essencial nas respostas ao medo, à ameaça, a situações de impulsividade, ao abuso de drogas e ao desejo sexual, sendo que a sua ativação em todos estes processos se dá num tempo que vai de micro a



milissegundos, sendo a substância P um dos elementos fundamentais da cascata de eventos que leva a todas estas respostas.(15)

De notar que todas estas estruturas respondem de forma variável ao mesmo estímulo de *stress*, havendo evidência de que ao se exporem ratos a uma mesmo agente stressante, observou-se uma diferente expressão do peptídeo c-Fos, codificado por um gene de resposta inicial imediata ao *stress*, em estruturas sensíveis ao *stress*, como o hipocampo, a amígdala e o CPF, sendo o contexto da exposição de crucial importância para a posterior expressão de c-Fos nas respetivas estruturas.(40)

### 3.3. A glândula suprarrenal, os glicocorticóides e os seus efeitos sistémicos.

Os glicocorticóides são o produto final do HPA, oscilando em sincronização com os ciclos circadiano e ultradiano, de uma forma constante e independente de fatores externos, como a exposição a um agente de *stress*.<sup>(41)</sup> No entanto a exposição ao *stress*, leva a alterações na produção e ritmo dos glicocorticóides, sendo este um dos principais mecanismos de formação de doenças relacionadas com o *stress*, nomeadamente doenças psiquiátricas em indivíduos vulneráveis.<sup>(42)</sup>

Os glicocorticóides, juntamente com os mineralocorticóides e com alguns dos esteroides sexuais, são produzidos no córtex da SR, sendo o principal glucocorticoide endógeno o cortisol. A síntese de cortisol dá-se na zona fasciculada do córtex da SR, sendo necessário colesterol para a sua síntese, o qual é transportado para a membrana interna mitocondrial através da proteína esteroidogénica aguda reguladora (StAR). A maioria das enzimas esteroidogénicas são enzimas da família citocromo P450. A síntese de glicocorticóides requiere a conversão de pregnenolona em progesterona, seguida da conversão em 17-hidroxiprogesterona pela CYP17A1, seguida de hidroxilação pela CYP21A2 e finalmente sofre 11 $\beta$ -hidroxilação pela CYP11B1 que dá origem a cortisol ativo.<sup>(43)</sup>

Após a sua síntese, o cortisol circula na corrente sanguínea, maioritariamente ligado à proteína CBG (*cortisol-binding globulin*), sendo que existe uma pequena fração ligada à albumina e uma ainda menor quantidade que circula sob a sua forma livre. O cortisol livre possui a capacidade de entrar diretamente nas células alvo, sem necessitar de transporte ativo. No citosol, o cortisol liga-se e ativa os GRs, ligação a qual leva a uma dissociação de proteínas de choque de calor, que permite a dimerização cortisol-GR. Estes dímeros sofrem translocação para o núcleo da célula onde ativam elementos de resposta aos glicocorticóides, na sequência de DNA, estimulando a transcrição de genes regulados pelos glicocorticóides.<sup>(43)</sup>

O cortisol é inativo em cortisona, pela enzima microsossomal 11 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 2, sobretudo no rim, mas também no cólon, glândulas salivares e outros tecidos. De notar que a cortisona também exerce atividade glucocorticoide, sendo no entanto muito mais fraca que a do cortisol.(43)

Existem diversas situações patológicas que conduzem a um aumento dos glucocorticóides circulantes, levando ao desenvolvimento de um síndrome de Cushing, causado quer por um adenoma da hipófise anterior produtor de ACTH, quer por um adenoma autónomo da SR, ou devido a um carcinoma da SR, ou a uma hiperplasia da SR, ou devido a um tumor ectópico produtor de ACTH, como uma síndrome paraneoplásica. No entanto, a causa mais comum de hipercortisolismo é a iatrogenia.(43) Na situação da exposição ao *stress*, caso se trate de uma situação aguda e ameaçadora da vida, teremos uma elevada secreção de cortisol, necessária para a sobrevivência do indivíduo, enquanto, por outro lado, se se tratar de uma estimulação crónica, contínua, como no caso da exposição crónica ao *stress*, teremos aumentos menos acentuados, mas com uma prevalência longa no organismo, causando efeitos deletérios a longo prazo.(44)

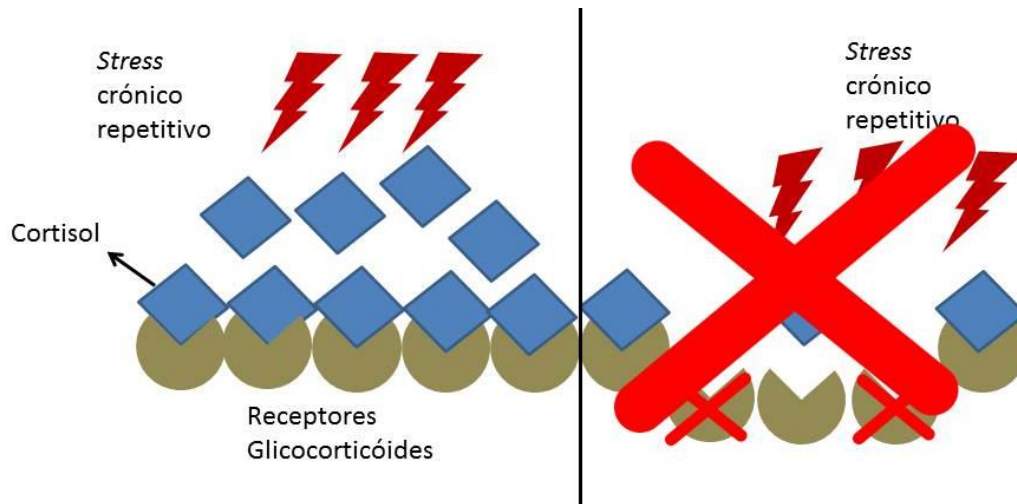
As principais consequências provocadas pelo hipercortisolismo são um aumento acentuado da gluconeogénese, da lipólise e do catabolismo proteico, sendo que estes três processos irão ser a base da maior parte das manifestações clínicas de hipercortisolismo, como a obesidade central, a diabetes, a HTA, sobretudo diastólica, o hirsutismo, a depressão e outros sintomas psiquiátricos como ansiedade e psicoses, a face em lua-cheia, o pescoço de búfalo, a pele frágil, com difícil cicatrização, as estrias violáceas, miopatia proximal, osteoporose, um estado de hipercoagulabilidade, que pode levar a trombozes venosas profundas e tromboembolias pulmonares, e finalmente um estado de imunossupressão (Tabela 3).(43)

<b>Manifestações de Hiper cortisolismo</b>	
<b>Diabetes</b>	<b>Face em lua-cheia</b>
<b>HTA</b>	<b>Pescoço de búfalo</b>
<b>Hirsutismo</b>	<b>Pele frágil</b>
<b>Depressão</b>	<b>Cicatrização difícil</b>
<b>Psicoses</b>	<b>Estrias violáceas</b>
<b>Ansiedade</b>	<b>Miopatia proximal</b>
<b>Osteoporose</b>	<b>Trombose venosa profunda</b>
<b>Tromboembolia Pulmonar</b>	<b>Imunossupressão</b>

**Tabela 3 - Manifestações de Hiper cortisolismo**

Muitas destas manifestações podem ser encontradas em indivíduos que sofram de *stress* crônico, e que não consigam ter uma resposta adaptadora compensatória eficiente, nomeadamente através de mecanismos de habituação ao *stress*.<sup>(10)</sup> Tendo sido, anteriormente já abordado o papel dos glicocorticóides no mecanismo de *feedback*, em situações de *stress* e nos seus mecanismos de habituação.<sup>(8)</sup> Contudo existe evidência de que, em indivíduos sob um episódio de depressão *major* não se verifica este processo de habituação, uma vez que nestes indivíduos, em comparação com indivíduos saudáveis, quando expostos a um teste de *stress*, continuam a apresentar elevados valores de cortisol circulante, mesmo após repetição do teste de *stress*, mostrando também que indivíduos, que já tinham tido um episódio depressivo anterior e que apresentavam um maior aumento de cortisol na realização do teste de *stress*, tinham uma maior probabilidade de vir a desenvolver outro episódio depressivo, estando assim os níveis de cortisol circulantes diretamente relacionados com o risco de recidiva de episódios de depressão.<sup>(45)</sup>

Está também provado que indivíduos com Diabetes *Mellitus* tipo 2, apresentam uma maior sensibilidade aos glicocorticóides, quer através dos GRs, quer dos MRs, e que esta sensibilidade não é perdida mesmo aquando uma situação de exposição a *stress* continuado, não existindo fenómeno de habituação (Fig.5), havendo consequentemente um mais pobre controlo glicémico destes indivíduos, devido à sua maior suscetibilidade aos efeitos hiperglicemiantes dos glicocorticóides, estando uma maior sensibilidade contínua aos glicocorticóides associada com valores mais elevados de HbA1c, bem como a mais fraco controlo da pressão arterial e frequência cardíaca destes indivíduos. Para além disso a recuperação pós-*stress* destes indivíduos é muito menos eficaz em comparação com grupos controlo. Em suma, indivíduos com Diabetes *Mellitus* tipo 2 possuem uma resposta ao *stress* psicológico mais atenuada, mas por outro lado não possuem a capacidade de modularem a sua sensibilidade aos glicocorticóides em situações de *stress*, levando a um mais pobre controlo da sua patologia base.(46)



**Figura 5 - A resposta ao *stress* no diabético tipo 2.** – Num diabético tipo 2 não se processa a normal habituação em situações de *stress* crónico, havendo pelo contrário um aumento da sensibilidade aos glicocorticóides que dificulta o controlo glicémico nestes doentes.

Um aumento de citocinas pró-inflamatórias também se mostrou estar presente em doentes diabéticos, expostos a eventos de *stress*, associado com a sua elevada sensibilidade aos glicocorticóides, não se verificando o efeito inibidor de controlo dos glicocorticóides sobre estes marcadores inflamatórios comparativamente com os doentes do grupo controlo, com normal sensibilidade e modulação da mesma aos glicocorticóides.(46)

Apesar da libertação de cortisol estar estreitamente relacionada com os níveis de ACTH, observam-se situações em que existe uma dissociação entre os seus valores circulantes, sendo evidente a existência de um controlo extra sobre a atividade da SR. Esta dissociação tem lugar quer numa fase fetal do desenvolvimento, quer numa fase pós-natal e também na vida adulta, existindo em fenómenos fisiológicos, contudo também existem fenómenos patológicos onde esta dissociação se verifica, incluindo doenças graves, processos inflamatórios e patologias psiquiátricas, pensando-se que alterações da sensibilidade da SR e

a expressão ou modulação aberrante de recetores da SR através de citocinas, substâncias vasoativas ou neuropeptídeos possam estar na origem desta dissociação.(12)

Existem diversas alterações que provam que a regulação da secreção de cortisol na SR está não só regulada pela ACTH, mas também por outros fatores. Este facto fundamenta-se na existência de um intervalo bem definido entre os picos de ACTH e cortisol e pelo facto de quer o cortisol quer a ACTH serem secretados de forma pulsátil, não havendo necessidade de sincronização entre estes pulsos, inclusive em situações de *stress*.(12)

Existem estudos que provam que substâncias como vários neuropeptídeos, neurotransmissores, fatores de crescimento, opióides, citocinas, adipocinas e mesmo substâncias bacterianas têm um efeito de regular a função da SR, tendo esta também, um controlo parácrino muito complexo. Adicionalmente sabe-se que a inervação da SR está intimamente conectada com o seu crescimento e função, podendo a inervação esplâncnica levar a um aumento acentuado da libertação de cortisol.(12)

O ritmo circadiano do cortisol também escapa ao controlo exclusivo da ACTH, uma vez que existe uma conexão polisináptica entre o núcleo supraquiasmático do hipotálamo, o local de coordenação do relógio biológico e a SR, havendo um aumento das concentrações de cortisol circulante durante os períodos de luz, não acompanhado pelo mesmo aumento de ACTH e para além disso ao final da noite, nos momentos finais do sono do indivíduo foi observado um aumento de ACTH não acompanhado por um mesmo aumento do cortisol.(47)

Lesões em estruturas do SNC relacionadas com o controlo da resposta ao *stress*, levam a uma dissociação entre os níveis de ACTH e corticoides circulantes, sendo a existência de uma secreção atenuada de corticoides no caso de lesão do núcleo anterior do leito da estria terminal, um exemplo deste mecanismo.(48)

Em situações de *stress* crónico, bem como exercício físico de longa duração ou no envelhecimento está também provada a existência de uma dissociação entre os valores de

ACTH e cortisol circulantes. Existe, no entanto, uma hiperplasia e hipertrofia da SR em indivíduos sujeitos a *stress* crónico, o que aumenta a sua resposta ao ACTH, sem necessidade de um aumento da sua sensibilidade à ACTH. Por outro lado esta dissociação no caso do exercício físico prolongado, permite uma resposta mais eficaz em termos físicos em situações de ameaça à vida e ao mesmo tempo conduz a uma resposta diminuída da SR em situações de *stress* psicológico e situações de ansiedade.(12)

Anteriormente foi abordado o efeito do *stress* na remodelação da densidade dendrítica, na qual apesar de aparentemente sem envolvimento direto, os corticoides também desempenham o seu papel, estando provado o seu envolvimento na formação e eliminação de espinhas dendríticas corticais, processo que se desenrola num espaço de horas, mas sendo no entanto essencial para processos de maturação espinal e para o desenvolvimento do cérebro adolescente.(42)

Numa situação de *stress* agudo os glicocorticóides promovem a consolidação da memória e afetam a memória de trabalho, através da ativação  $\beta$ -adrenérgica e cAMP-dependente de uma proteína cinase A na amígdala e no CPF.(49) Ainda na sua atuação aguda, os glicocorticóides promovem a retenção de memória a longo prazo, pela da estimulação da formação de espinhas dendríticas dependentes da aprendizagem, através de um mecanismo de sinalização, não genómico, dependente de um GR, que aumenta a proteína LIM cinase e, conseqüentemente, a fosforilação da cofilina, que estabilizam os polímeros de actina e promovem o crescimento dendrítico.(50)

Ainda na sua atuação aguda, os glicocorticóides facilitam a transmissão mediada pelo GLU, uma vez que estes provocam um aumento da libertação pré-sináptica de GLU, e estimulam o transporte de recetores do GLU, como os recetores AMPA e NMDA, para a membrana pós-sináptica.(17) Adicionalmente, também ativam as vias da MAP cinase e da CaM cinase II, que se encontram relacionadas com a ativação de mecanismos envolvidos na



consolidação da memória e por último, os glicocorticóides na sua atuação numa fase aguda, também estimulam a sinalização por endocanabinóides, a qual possui um papel regulador nas vias de sinalização por GLU e outros neurotransmissores.(42)

Por outro lado, quando estamos perante uma exposição crónica aos glicocorticóides estes apresentam efeitos, bastante distintos a nível das estruturas do SNC acima mencionadas. Esses efeitos foram já explorados na secção “A resposta mediada pelo SNC, a sua adaptação e consequências da exposição ao *stress*”.

Como se tem vindo a referir ao longo deste trabalho o *stress*, provoca oscilações nas concentrações de glicocorticóides circulantes, as quais aparentam estar em estreita relação com os efeitos deletérios causados, por uma exposição crónica ao *stress*, aumentando o risco de patologias como a depressão, a perturbação do *stress* pós-traumático (PSPT), e distúrbios de ansiedade, existindo evidência, que as alterações provadas aos ciclos circadiano e ultradiano dos glicocorticóides, poderão estar na base destas patologias.(42) Sabe-se que em situações de *stress* crónico, a produção diária total de cortisol está aumentada, apagando de certa forma o ritmo diurno de libertação de cortisol, bem com reduzindo a amplitude do pico circadiano, alterando significativamente as oscilações circadianas e ultradianas do cortisol.(51)

Todo o leque de ações dos glicocorticóides e as suas relações com a resposta ao *stress* demonstram-nos a sua importância em futuras intervenções relacionadas com o *stress*, sendo um vasto campo de investigação a desenvolver.

### 3.4. Alterações imunológicas relacionadas com o *stress*

Sabe-se que o *stress*, provoca alterações na resposta imunitária, nomeadamente com o aparecimento de aftas orais, reativação de lesões herpéticas, associados a momentos de *stress*, quer fisiológicos, como febre, quer emocionais. Não existindo ainda um mecanismo totalmente consensual, na relação causa-efeito destas manifestações, havendo no entanto algumas teorias que trazem alguma fundamentação a estas alterações, como a presença de uma imunossupressão generalizada, provavelmente causada pelo hipercortisolismo, e também pelo aumento dos opióides circulantes associados à resposta ao *stress*. Estes mecanismos permitem-nos explicar em parte, a presença de uma linfopenia, monocitopenia e eosinopenia, bem como uma diminuição da fixação dos leucócitos aos locais de inflamação.(3) Um dos mecanismos responsáveis pela linfopenia é a redistribuição dos linfócitos T, com aumento da apoptose e atrofia tímica e do restante tecido linfóide.(3)

A resposta imunitária é ativada por diversos genes, que codificam diversas moléculas efetoras e reguladoras. No caso da resposta imunitária inata, a transcrição dos respetivos genes é ativada por três mecanismos: um primeiro através de padrões moleculares associados ao agente patogénico (PAMPs), um segundo através de sinais de perigo, derivados do *stress* ou da morte celular da célula hospedeira e um terceiro, através de uma cadeia de sinalização neuro-endócrina, que interpreta e integra as sensações macro-ambientais circundantes e do hospedeiro.(52)

Através deste terceiro mecanismo vamos de encontro ao papel do *stress* no sistema imunitário, demonstrando as suas conexões endócrinas e neurológicas. Este controlo neuro-endócrino da resposta imunitária inata assenta em diversos pilares, começando pela produção de glicocorticóides, mediada pelo HPA, que circulam pelo organismo alterando uma grande variedade de vias metabólicas e processos de desenvolvimento, tendo um grande efeito de supressão sobre os programas genéticos responsáveis pelas respostas pró-inflamatória e

antiviral.(43) Outro sistema de fulcral importância no controle da resposta imunitária inata é o SNS, que inerva os órgãos linfóides, quer primários, quer secundários, libertando noradrenalina no parênquima de tecidos envolvidos na hematopoiese e na interação entre as células apresentadoras de antígenos e os linfócitos. Concomitantemente a noradrenalina também é libertada em diversos órgãos e tecidos periféricos, através da inervação vascular simpática dessas regiões, tendo um papel importante no controle microambiental de reações agudas e crônicas inflamatórias.(52) Adicionalmente a inervação simpática da SR, leva à liberação de adrenalina na circulação sistêmica, que vai conduzir à supressão da resposta antiviral mediada pelo interferão tipo I e que promove a transcrição de citocinas pró-inflamatórias.(53)

Existe também uma vasta rede neuronal eferente, com inervação dos tecidos periféricos, que distribui neuropeptídeos relacionados com a dor, neuropeptídeos reguladores do sistema entérico e um diverso leque de outros neuromoduladores fisiológicos específicos capazes de estimular receptores presentes em células responsáveis quer pela resposta imunitária inata, quer adaptativa.(52)

O SNC também é responsável pela liberação de diversos mediadores envolvidos na resposta imunitária, quer inata quer adaptativa, nomeadamente a hormona do crescimento, o fator de crescimento insulina-like, opióides endógenos e toda uma vasta gama de outros neuropeptídeos.(52)

Corroborando as hipóteses acima mencionadas, existe evidência que crianças expostas a um elevado nível de stress psicológico, apresentavam uma maior reatividade a antígenos relacionados com a diabetes (GAD<sub>65</sub>, HSP60, IA-2), bem como diminuição de diversas citocinas (interleucina (IL)-5, IL-10, IL-13 e IL-17) e quimiocinas (CCL2, CCL3 e CXCL10), indicando que, crianças com altos níveis de stress apresentam uma atividade diminuída das células Th2, Tr1 e TH17, sugerindo um efeito maioritariamente

imunossupressivo causado pelo *stress*. (54) Contudo esta imunossupressão, nomeadamente dos linfócitos T reguladores e das células Th2, suporta uma exacerbação de condições inflamatórias, nomeadamente doenças autoimunes, existindo uma alteração do balanço dominante passando de Th1/Th2 para um balanço pró-inflamatório dominante Th1/Th17, conseguido à custa da supressão das células Th2 e dos linfócitos Treg. (55)

Está provado que as células Th1 estão relacionadas com fenómenos de autoimunidade, sendo que em crianças altamente stressadas existe um aumento acentuado de IFN- $\gamma$ , que é uma citocina associada a células Th1 e concomitantemente inibe a proliferação de células Th2 e Th17.(56)

Foi observada uma elevada atividade de células Th1 e Th2 em crianças em *stress*, associada a uma também elevada atividade de células Tr1, que demonstra uma falência na regulação da proliferação celular destas mesmas células, levando a desequilíbrios no sistema imunitário, nomeadamente no caso das células Th2 que apresentam um papel protetor, como por exemplo nas células  $\beta$  em casos de Diabetes, contudo uma elevada atividade Th2 pode levar a uma sobre ativação de células  $\beta$  e criação de autoanticorpos. (54)

Uma elevada atividade das células Th17, em indivíduos com *stress*, está também associada a diversas patologias autoimunes, nomeadamente a diabetes, a Artrite reumatóide e a doença de crohn, uma vez que estas células estimulam diversas citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , a IL-6 e CCL-2. (57)

Por sua vez a inflamação também parece ter um papel regulador sobre o SNC, onde vias de sinalização periféricas possuem a capacidade de fazer chegar informação ao SNC, através de diversas formas, tais como, a interação de citocinas circulantes com recetores cerebrais de citocinas nos órgãos circunventriculares, uma vez que estas não necessitam de passar qualquer barreira-hemato-encefálica (BHE) fisiológica para atingir estes recetores. Estes sinais pró-inflamatórios possuem também a capacidade de estimular as células

vasculares endoteliais cerebrais a libertar segundos mensageiros, que por sua vez, irão estimular a produção de citocinas ao nível do SNC. Existem também moléculas transportadoras que transportam ativamente citocinas através da BHE para o SNC. Finalmente, existe também a estimulação inflamatória de neurónios aferentes periféricos, que irão estimular o SNC a produzir citocinas.(52)

As estruturas do SNC que respondem diretamente à ação das citocinas são o hipotálamo, o hipocampo, a amígdala, o CPF, o córtex cingulado anterior e o *striatum* ventral, havendo ainda diversas estruturas que serão envolvidas neste processo de uma forma indireta graças às projeções neuronais das estruturas agora referidas.(52) Todas estas estruturas foram previamente referidas como elementos do SNC envolvidos na resposta ao *stress*, o que demonstra a sua estreita relação com o sistema imunitário.

Atualmente existem alterações comportamentais que já demonstraram reduzir a inflamação ao nível do SNC, sendo elas, a terapia cognitiva comportamental, a realização de exercício aeróbio, também já anteriormente neste trabalho referido como um bom regulador da resposta ao *stress*, a meditação, através de exercícios de concentração do pensamento e de relaxamento, que reduzem a atividade do SNS e seus efeitos consequentes, e por último o Tai Chi Chih, que se trata de uma versão ocidental do Tai Chi, que combina meditação com exercício aeróbio.(52)

Está demonstrado que o *stress* possui uma enorme influência sobre o sistema imunitário, afetando o desenvolvimento de diversas patologias, sobretudo autoimunes, mas também outras, como a asma ou mesmo a suscetibilidade para infeções respiratórias.(58) Sendo de crucial importância compreender melhor o papel do *stress* sobre o sistema imunitário.

### 3.5. As catecolaminas e os seus efeitos.

Pode dizer-se que as catecolaminas influenciam todos os tecidos do corpo humano, participando na regulação de inúmeros processos fisiológicos e patológicos.

Ao nível do SNC a maioria dos neurónios catecolaminérgicos não respeita as fronteiras anatómicas dos núcleos cerebrais; possuem uma grande e divergente arborização axonal com um grande número de colaterais axonais e milhares de terminais; têm um elevado número de terminais não sinápticos para a realização de neurotransmissão extrasináptica; expressam uma enorme variedade de neuropeptídeos e cotransmissores; expressam, também, transportadores de membrana específicos que aumentam a recaptção de catecolaminas da fenda sináptica ou do espaço extracelular à volta dos axónios e seus colaterais; possuem uma grande capacidade regenerativa dos seus axónios e possuem a capacidade de apresentar uma resposta forte, rápida e seletiva a um estímulo de *stress*.<sup>(9)</sup>

Em termos periféricos demonstrou-se que a exposição a agentes stressantes conduz à estimulação e produção de catecolaminas pela medula da SR, nomeadamente adrenalina e noradrenalina, as quais necessitam de tirosina hidroxilase para a sua síntese, estando a atividade desta também aumentada em situações de *stress*.<sup>(9)</sup>

Clinicamente um excesso de catecolaminas pode provocar palpitações, devido a taquicardia com ou sem arritmia, cefaleias, sudorese profusa, agressividade e HTA, podendo esta última ser a sua única manifestação patológica. Uma crise aguda de libertação de catecolaminas pode levar a falência cardíaca, arritmias, edema pulmonar e hemorragia intracraniana.<sup>(43)</sup>

Como já anteriormente referido as catecolaminas possuem também um papel modulador no sistema imunitário, sendo um dos seus efeitos a regulação do fator de transcrição nuclear NF- $\kappa$ B, através de recetores  $\beta_2$ -adrenérgicos, atuando ao nível da membrana plasmática, do citoplasma e do núcleo, através de diversos mecanismos

moleculares, do desdobramento de proteínas, de transdutores de sinal e de cofatores da transcrição, estando ainda por apurar se esta relação entre os recetores  $\beta_2$ -adrenérgicos e o NF- $\kappa$ B, terá efeitos deletérios ou benéficos em termos de resposta inflamatória.(59)

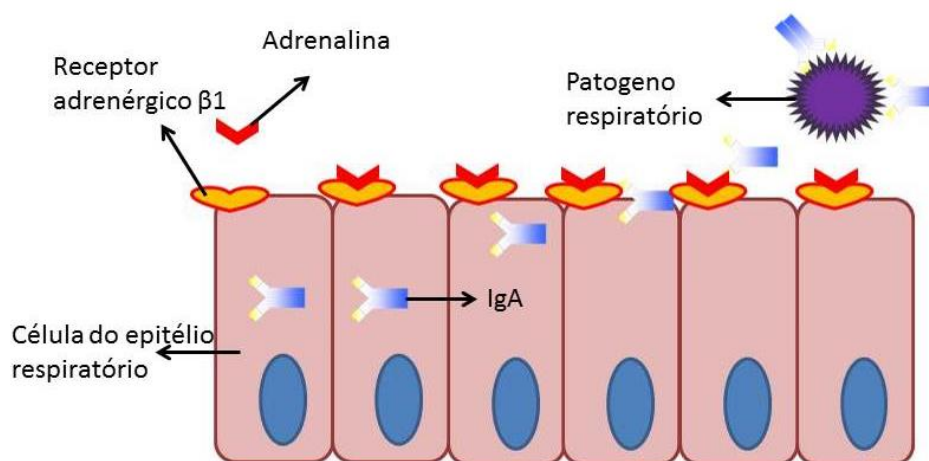
Sabe-se também que a exposição prolongada ao *stress* catecolaminérgico, nomeadamente à adrenalina, na presença de uma ferida, resulta num tráfico contínuo e aumento da sobrevivência das células polimorfonucleares através de uma via dependente de recetores  $\beta_2$ -adrenérgicos bem como através de mecanismos mediados pela IL-6, os quais levam a uma mais difícil cicatrização da respetiva ferida, sendo estes possíveis alvos para a terapêutica de feridas crónicas ou de difícil cicatrização.(60)

Estudos realizados em células 3T3 (fibroblastos de murino, cultivados no meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* com 4 mM de L-GLU, 1.5g/l de bicarbonato de sódio, 4.5 g/l de glicose e 10% de soro fetal bovino) demonstraram que a exposição destas mesmas células a elevadas concentrações de catecolaminas, resultou em danos a longo prazo do seu DNA, sendo estes demonstrados por um aumento da transformação do fenótipo das células e por uma maior progressão tumoral verificada nestas células, indicando que as catecolaminas são importantes mediadores dos efeitos do *stress* na instabilidade e vulnerabilidade do genoma e na oncogénese.(61)

Ao nível do núcleo do trato solitário, sabe-se que os neurónios noradrenérgicos  $\alpha_2$ , são necessários para uma adequada resposta cardiovascular e ativação do HPA em situações de *stress* agudo, enquanto, em situações de *stress* crónico eles são necessários para manter um controlo autonómico a longo prazo sobre uma estimulação stressante contínua, diminuindo a ativação simpática constante presente nestas situações. No entanto, contrariamente às situações de *stress* agudo estes neurónios não têm um papel de ativação do HPA, mas apenas de regulação autonómica no *stress* crónico, podendo estes ser de vital importância para a

prevenção de patologia cardíaca e em patologias psiquiátricas associadas ao *stress*, como é o caso da depressão.(62)

A adrenalina também demonstrou estar associada a uma resposta imunitária precoce em situações de agressão ao organismo, tendo esta um papel muito importante no transporte de IgA nas vias respiratórias em situação de infecção respiratória, sobretudo graças à sua atuação nos recetores  $\beta 1$  presentes no epitélio da mucosa respiratória, reduzindo a passagem bacteriana através da mucosa, o que está associado a um melhor prognóstico da infecção. Em contra partida doentes com um défice de IgA, quer por falha de resposta adrenérgica, quer por imunossupressão, apresentavam um pior prognóstico e uma maior taxa de complicações (Fig.6).(63)



**Figura 6 - Estimulação da migração de IgA no epitélio respiratório pela adrenalina** – ao atuar em receptores adrenérgicos  $\beta 1$ , a adrenalina vai estimular transporte de IgAs através da mucosa respiratória, diminuindo assim a incidência e as complicações das infecções respiratórias.

Ainda a reforçar o papel das catecolaminas na resposta imunitária inata, verificou-se que a resposta aguda ao *stress* induzida por adrenalina provoca uma rápida acumulação de células Natural-killer (NK) maduras e funcionais, que se acumulam na circulação periférica,



prontas a dar resposta ao estímulo agressor, possuindo estas um perfil de recetores que lhes permite migrar de forma rápida e eficaz para o local de lesão, existindo, contudo diferenças de intensidade de resposta a estes estímulos entre indivíduos, que podem ser explicadas por diferenças no perfil de recetores expressos pelas células NK na resposta ao *stress* agudo.(64)

De frisar que esta informação recolhida representa apenas a ponta do iceberg, de todos os efeitos causados pelas catecolaminas e do seu possível papel na resposta ao *stress*, havendo ainda imensas áreas a explorar.

### 3.6. O papel do *stress* no desenvolvimento e as suas diferenças entre sexos

Como já foi acima mencionado o *stress* possui um impacto no desenvolvimento do organismo, tendo já sido referido o envolvimento dos glicocorticóides na formação e eliminação de espinhas dendríticas corticais, processo que se desenrola num espaço de horas, mas sendo no entanto essencial para processos de maturação espinhal e para o desenvolvimento do cérebro adolescente.(42)

Para se abordar este tema é necessário ter em conta que os conceitos de saúde e de suscetibilidade para doença são determinados por uma relação muito íntima entre fatores genéticos e o ambiente envolvente, sendo o período de vida intrauterino e o início da vida pós-natal, espaços de tempo cruciais para a definição destes conceitos, contudo há que se ter em conta que apenas em situações extremas as alterações intrauterinas observadas durante a gravidez terão efeitos diretos na saúde do indivíduo causando doença. Por outro lado, verifica-se uma frequente propensão para o desenvolvimento de determinadas patologias na vida adulta, como por exemplo através de elevados níveis de ansiedade, uma vez que houve um modelamento fenotípico para a resposta a fatores de risco endógenos e exógenos nestes indivíduos na sua vida intrauterina.(65)

Está provado que a exposição a elevados níveis de *stress* pré-natal provoca maiores níveis de ansiedade, maior vulnerabilidade para o uso de drogas de abuso, leva a um avanço de fase no ritmo do ciclo circadiano da atividade locomotora e aumenta o sono paradoxal em ratos adultos, sendo estes comportamentos, um resultado de alterações permanentes ao funcionamento cerebral, sobretudo nos mecanismos de *feedback* do HPA, uma vez que a secreção de glicocorticóides está prolongada após exposição ao *stress* e os seus recetores estão reduzidos, aos quais está associada uma alteração da produção e libertação de diversos neurotransmissores. Suspeita-se que um aumento maternal de glicocorticóides induzidos pela *stress*, durante a gravidez esteja na base destas alterações observadas, verificando-se mais

tarde a sua presença em diversas situações de depressão e de outras patologias associadas ao *stress*.(66)

Estes efeitos causados pela exposição ao *stress* pré-natal durante a gravidez, nomeadamente, um aumento dos níveis de ansiedade, são também dependentes do sexo do embrião, estando provado que ratos do género masculino, filhos de mães expostas a *stress* durante a sua gravidez, apresentam níveis de ansiedade mais elevados em comparação com as fêmeas, obtidas nas mesmas condições, verificando-se uma diminuição da resposta do HPA a situações de *stress* agudo nos ratos do sexo masculino, juntamente com um aumento da expressão do mRNA para os GRs no hipocampo. Observou-se também um aumento da expressão do mRNA da CRH no núcleo central da amígdala, acompanhando-se de uma maior expressão do recetor 1 da CRH nessa região e de uma diminuição da expressão do recetor 2 da CRH, não se verificando nenhuma alteração nas fêmeas estudadas.(67)

Agressões em termos imunitários, designadas de *stress* imunitário, durante a gravidez encontram-se associadas a nascimentos prematuros, a diversos défices cognitivos e alterações do comportamento afetivo e ainda a uma diminuição da fecundidade nos indivíduos numa fase pré-adolescente. Este *stress* imunitário foi provocado através de administração de IL-1 $\beta$ , a qual mostrou provocar uma redução da capacidade cognitiva em ratos, tendo aumentado o perfil de ansiedade em ratos machos, mas diminuindo este mesmo em ratos fêmeas mostrando novamente a variabilidade entre sexos nas manifestações pré-natais de *stress*. Adicionalmente verificou-se também uma redução da metabolização da progesterona no hipocampo nos seus metabolitos 5 $\alpha$  reduzidos em fêmeas e uma redução em ambos os sexos dos níveis de estradiol no hipocampo, CPFm e no diencéfalo, demonstrando também uma diminuição da produção de esteroides neuronais.(68)

Dando força aos dados acima mencionados, existem estudos que demonstram que infeções durante a gravidez, como o *Toxoplasma gondii*, *Influenza* ou vírus da família *Herpes*

*Simplex*, estão relacionadas com o aparecimento mais tarde de patologias como esquizofrenia, psicoses e alterações no espectro do autismo, sendo o aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, como o TNF- $\alpha$  ou a IL-8 um dos prováveis mecanismos responsáveis por esta associação.(69)

Um elemento de fulcral importância nestas alterações é a placenta, pois é através desta que se processa todo o transporte de substâncias e sinalizações entre a mãe e o embrião ou feto, nomeadamente a sinalização endócrina associada ao *stress* materno. A placenta tem também como função a proteção do feto dos insultos maternos, sobretudo tendo em vista uma sobrevivência do feto a curto prazo, em detrimento da sua própria sobrevivência, podendo a própria placenta entrar em autofagia em situações de privação nutricional de forma a nutrir o feto, contudo estas respostas a longo prazo poderão ter consequências no feto como alterações nas vias da resposta ao *stress* e alterações do neurodesenvolvimento, uma vez que todas estas ações agudas da placenta acarretam um grande *stress* para o feto, sendo a alternativa ideal a evitação desses insultos agudos.(69)

Sobre a placenta há ainda que ter em conta que esta se trata de um tecido composto por células maternas e células fetais, representando estas últimas a sua maioria, sobretudo graças a células trofoblásticas. Ou seja, isto implica um genoma diferente presente na placenta em relação à mãe, estando também a placenta sujeita às alterações dependentes do sexo do feto na sua resposta aos diferentes estímulos externos que recebe, havendo dados que mostram que a exposição ao *stress* crónico provoca alterações a nível da unidade feto-placenta, com maior intensidade nos fetos do sexo masculino.(70)

Neste campo há que ter em conta que os glicocorticóides, graças à sua natureza lipofílica passam a placenta com grande facilidade, contudo a existência da enzima 11 $\beta$ HSD2, que é uma enzima que degrada os glicocorticóides nos seus metabolitos inativos, tem um fator protetor do feto na presença de grandes quantidades de glicocorticóides, evitando a sobre-

exposição do feto a estas hormonas, podendo estar aqui uma área a investir no futuro, de forma a prevenir efeitos a longo prazo no feto, devido à sua exposição ao *stress* pré-natal.(71)

De frisar que os glicocorticóides também estão associados a alterações no estado oxidativo da placenta, onde a exposição a glicocorticóides externos em fetos do sexo feminino promove uma redução dos sinais de *stress* oxidativo pós-parto, enquanto em fetos do sexo masculino promove um estado favorecendo maiores níveis de *stress* oxidativo.(72)

Contrariamente aos glicocorticóides, as citocinas não possuem a mesma capacidade de passar através da placenta, contudo existe evidência de efeitos no feto à sua exposição pré-natal, em situações de *stress* materno. Para explicar esta situação, existe um modelo que sugere que a interação entre as citocinas e a placenta, levando a uma ativação do sistema imunitário no feto, havendo evidência que o bloqueio de citocinas pró-inflamatórias em ratos durante a gravidez produz uma melhoria dos quadros associados à exposição pré-natal ao *stress*, tendo o controlo de infeções na gravidez tido também um impacto positivo.(69)

Adicionalmente à exposição pré-natal ao *stress*, existem também fatores pós-natais que afetam o desenvolvimento do indivíduo, nomeadamente o baixo peso à nascença e os fracos cuidados maternos na infância demonstraram estar associados a um baixo volume do hipocampo, mostrando a importância da exposição pós-natal ao *stress* no neurodesenvolvimento.(65)

Para finalizar esta abordagem do desenvolvimento, procuro frisar a importância da exposição ao *stress*, sobretudo ao nível pré-natal no neurodesenvolvimento, onde se verificou que em mães com elevados níveis de ansiedade no segundo trimestre de gravidez, mais tarde, os seus filhos apresentavam uma redução marcada do volume da substância cinzenta.(65) A exposição pré-natal ao *stress* é um campo de atuação de extrema importância.

### 3.7. Genética e epigenética da resposta ao *stress*

Como já referido diversas vezes ao longo deste trabalho, toda a resposta ao *stress* e os seus efeitos implicam a transcrição e ativação de diversos genes, que codificam as proteínas essenciais para a resposta ao *stress* se desenvolver.

Sabe-se que a expressão genética no cérebro está em constante mudança, mudando constantemente com as experiências vividas e com a introdução de novos agentes stressantes, sendo que todas estas novas experiências terão diferentes efeitos caso se trate de um cérebro nunca exposto ao *stress*, de um cérebro cronicamente exposto ao *stress* ou um cérebro recuperado de *stress* crónico, pois apesar de o cérebro possuir um enorme plasticidade e capacidade de recuperação de exposição a agentes stressantes, ficará sempre uma determinada marca em termos de expressão génica nesse mesmo cérebro.(4)

Em termos de coordenação genética da resposta ao *stress*, podemos dividi-la em dois tipos: a genómica e a não genómica.(73) Em termos de resposta genómica, poderemos ter os genes de resposta precoce imediata, que nos permitem estudar a ativação funcional do cérebro, após exposição a um determinado agente stressante, nomeadamente através da ativação do proto-oncogene c-Fos, que se processa rapidamente em resposta a novos contextos de exposição a agentes stressantes, estando implicado na ativação cortico-límbica na resposta ao *stress*.(40) Dentro da resposta genómica, existem ainda, mecanismos genómicos lentos, como é o caso da maioria dos efeitos celulares causados pelos glicocorticóides.(24)

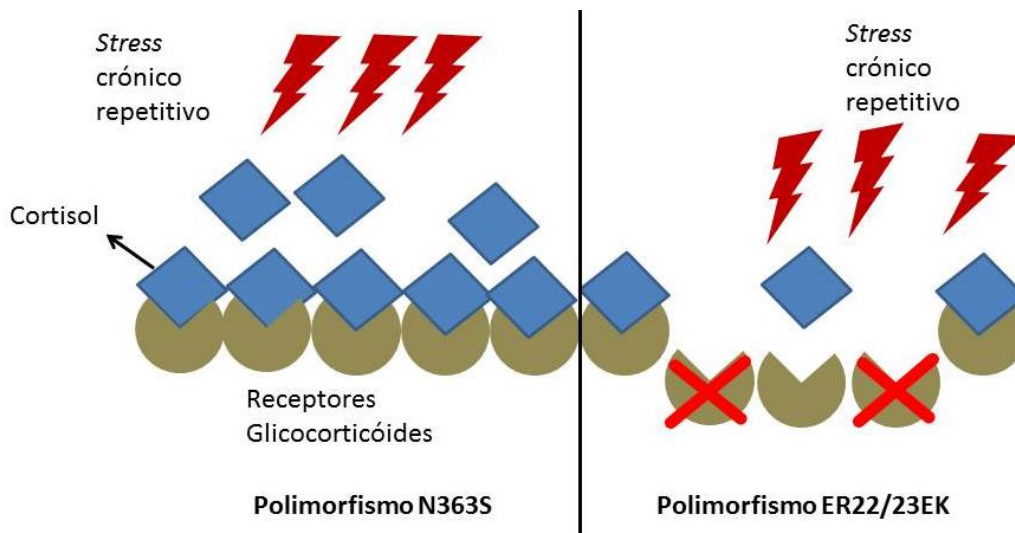
A parte não genómica, também possuindo vias rápidas e lentas, representa também um papel essencial na regulação da resposta ao *stress*. No hipocampo os glicocorticóides, possuem a capacidade de aumentar a libertação de GLU, promovendo a excitabilidade neuronal através de MRs, de uma forma não genómica, bem como também permitem ações sobre a libertação de GLU e GABA ao nível do hipocampo nos neurónios magnocelulares,

graças às vias de sinalização retrógrada dependentes de endocanabinóides e de NO, podendo este processo, conjuntamente com a ativação no núcleo basolateral da amígdala de um recetor de membrana sensível aos glicocorticóides, estar associado com a consolidação de memórias adversas.(24)

Os GRs também possuem a capacidade de ativar as vias de sinalização retrógrada por NO no hipocampo, através de vias não genómicas, abrindo canais iónicos em determinadas fases da criação de um potencial de ação neuronal, evitando que os glicocorticóides tenham um efeito demasiado pronunciado sobre as IPSCs de membrana, sendo este um mecanismo de defesa contra uma resposta demasiado exacerbada ao *stress*.(24)

Os GRs possuem uma enorme diversidade de polimorfismos, nomeadamente o polimorfismo ER22/23EK, que está presente em cerca de 3% da população e se encontra associado a uma reduzida atividade transcricional de genes repórteres responsivos aos glicocorticóides e genes endógenos, conferindo assim uma certa insensibilidade aos glicocorticóides, que se encontra associada a uma menor taxa de alterações da tolerância à glicose, Diabetes *Mellitus* tipo 2 e alterações cardiovasculares, mostrando uma possível associação deste polimorfismo com um perfil metabólico mais favorável (Fig.6).(73)

Por outro lado a presença do polimorfismo N363S, presente em 4% da população, promove a atividade de transcrição dos GRs, levando a uma hipersensibilidade aos corticoides, tendo sido demonstrado que os seus portadores apresentam tendência para terem um índice de massa corporal elevado e uma reduzida densidade óssea (Fig.7).(73)



**Figura 7 - Diferenças na sensibilidade aos corticóides nos polimorfismos N363S e ER22/23EK** – Em portadores do polimorfismo N363S verifica-se uma maior sensibilidade aos corticóides na resposta ao *stress*, sendo o mecanismo de habituação ineficaz. Por outro lado, portadores do polimorfismo ER22/23EK apresentam uma diminuída sensibilidade aos corticóides em situações de *stress*, possuindo um perfil metabólico mais favorável.

Com o exemplo destes dois polimorfismos, que representam apenas a troca de um aminoácido na cadeia que codifica os GRs, podemos constatar a enorme importância que a genética possui no controlo da resposta ao *stress*.

Apesar de todo este controlo genómico e não genómico exercido sobre a ação dos hormonas esteroides, a epigenética também representa um papel de grande importância, uma vez que uma grande parte das ações cumulativas exercidas pelos mediadores da resposta ao *stress* são devidas a alterações da expressão génica causadas por diversos mecanismos epigenéticos, como a metilação de bases de citosina na cadeia de DNA, ou através da ação de regulação desempenhada pelo RNA não codificante, ou ainda, através da modificação de histonas que tanto pode inibir como estimular a expressão de determinados genes.<sup>(4)</sup>



Um exemplo do papel da epigenética na resposta ao *stress*, verifica-se no hipocampo, mais concretamente no giro dentado, onde em situações de *stress* agudo ocorre uma trimetilação da lisina 9 na histona H3, a qual está associada à inibição de elementos do retrotransposição e do RNA codificante e não codificante, que seriam normalmente traduzidos a partir do DNA reprimido por este bloqueio, pensando-se também que esta alteração possa alterar a estabilidade genómica em situações de *stress* crónico.(74)

Outro exemplo do papel da epigenética verifica-se no papel do microRNA-29c, localizado nos astrócitos, que é solicitado pelo CPF ventro-medial, em situações de *stress* psicológico, estando simultaneamente associado a uma redução da conectividade funcional do CPF dorso-lateral, levando a uma diminuição das capacidades de avaliação e cognição necessárias para terminar uma resposta emocional nestas situações, sendo este microRNA um possível bom marcador para identificar alterações induzidas pelo stress em circuitos neuronais funcionalmente distintos. (75)

Como acima referido, os transposões, e o fenómeno de transposição, também se encontram intimamente ligados aos marcadores epigenéticos, tendo um papel importante na expressão de determinados genes associados à resposta ao *stress*, sendo estes próprios muitas vezes ativados pelo próprio evento stressante, funcionando de certa maneira como um processo evolutivo protetor pois ao inibirem a transcrição de determinados genes, previnem a tradução de proteínas incorretamente transcritas devido ao evento stressante, enquanto por outro lado após uma fuga com sucesso, e baixa dos níveis de *stress* a tradução proteica retomaria o seu curso, permitindo a consolidação de memórias de fuga eficaz após o evento stressante. (74)

Nesta rápida e resumida abordagem consegue-se ter uma ideia do quão complexo e importante é o papel da genética e epigenética no estudo da resposta ao *stress*, encontrando-se

aqui muitos dos futuros caminhos a seguir em termos de investigação relacionada com o *stress*.

### 3.8. Patologias associadas ao *stress*

Ao longo deste trabalho foram sendo abordadas diversas patologias relacionadas com o *stress* e as suas implicações na própria resposta ao *stress*, inseridas dentro do respetivo mecanismo de ação. Neste capítulo procurarei fazer um apanhado das diversas patologias e a sua ligação ao *stress*.

Inicialmente constatámos de uma forma genérica que existem diversas patologias de diversos órgãos e sistemas relacionadas com o *stress*, nomeadamente do sistema cardiovascular, com consequências como a HTA, disritimias e enfarte agudo do miocárdio, do sistema músculo-esquelético, com cefaleias de tensão e lombalgias, do sistema pulmonar com asma, do sistema imunitário com diversas imunodeficiências, do sistema gastrointestinal com úlceras pépticas, colite ulcerosa e síndrome do intestino irritável, do sistema génito-urinário com disfunções na diurese, disfunção erétil e impotência ou frigidez, do sistema endócrino, com amenorreia, fadiga, letargia e *Diabetes Mellitus*, do sistema nervoso central, com alterações do apetite, insónia, depressão, ansiedade, convulsões, amnésia, falta de concentração, fadiga e letargia e da pele, com diversos sinais de atopia, como eczema, alergias, seborreia do couro cabeludo e também acne.(3)

Seguidamente, verificou-se uma especial suscetibilidade para doenças psiquiátricas, como a depressão, distúrbios da ansiedade, esquizofrenia e outras psicoses, alterações do espectro do autismo e PSPT.(36, 42, 69)

Observou-se o papel da dissociação entre a ACTH e o cortisol em situações patológicas, como a inflamação e sépsis, patologias psiquiátricas, doença de Alzheimer, doença pulmonar obstrutiva crónica, cirurgia e *stress* cirúrgico, fraturas ósseas, alcoolismo e doenças metabólicas, e a sua associação com os graus de severidade e complicações destas patologias.(12)

Em termos imunitários, para além das imunodeficiências, observou-se, em indivíduos com alto nível de stress, uma associação a diversas patologias autoimunes, como a diabetes, a artrite reumatóide e a doença de crohn, estando estas patologias ligadas à estimulação de diversas citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e CCL-2 por células Th17.(57)

Em termos genéticos, constatou-se que a existência de determinados polimorfismos para os GRs, pode apresentar um fator protetor, reduzindo a suscetibilidade para alterações da tolerância à glicose, diabetes mellitus tipo 2 e patologia cardiovascular, mas por outro lado outros polimorfismos podem conferir suscetibilidade a um mais elevado índice de massa corporal e a uma redução da densidade óssea.(73) Na parte epigenética, para além de toda a suscetibilidade causada pelas diversas metilações de determinados genes há ainda que referir o papel dos elementos de transposição (transposões), quer ao nível da regulação da resposta ao stress e da consolidação de memórias graças à sua supressão de RNAs, mas estes também se encontram envolvidos em diversas patologias, nomeadamente no cancro e patologias autoimunes, estando comprovada a sua ligação à degeneração da retina, à esquizofrenia, ao alcoolismo, à PSPT, e a diversas doenças neurodegenerativas, como a demência fronto-temporal, a esclerose lateral amiotrófica e a neurodegeneração associada à idade.(74)

Especificamente em termos do sistema respiratório, foi demonstrado que a adrenalina tem a capacidade de estimular o transporte de IgAs através da mucosa respiratória, atuando em recetores  $\beta$ 1, diminuindo a incidência de pneumonias e outras infeções respiratórias (Fig.6), bem como as suas complicações em situação de infeção já instalada, sobretudo em doentes debilitados, como o caso de doentes ventilados ou politraumatizados.(63) Adicionalmente sabe-se que diversos fatores como humores depressivos extremos ou perturbações de ansiedade aumentam a suscetibilidade a infeções respiratórias, reforçada ainda pela falta de apoio social e pela presença de agentes stressantes sociais, suspeitando-se que esta suscetibilidade se deva a uma imunodepressão, sobretudo através da redução da

citotoxicidade das células NK, processo que se reverte na presença de fatores que aliviam o *stress*.[\(58\)](#)

Relativamente à asma, existe evidência de uma associação entre a exposição intrauterina ao *stress* materno e o seu desenvolvimento, onde a vivência de situações de discriminação, de dificuldades financeiras, de violência comunitária e de outros eventos de vida negativos está intimamente relacionada com um aumento de IgEs no cordão umbilical dos respetivos fetos, estando estes fatores associados com o desenvolvimento de asma e de outras situações de atopia.[\(58\)](#) De salientar ainda que a exposição ao *stress* potencia o desenvolvimento de crises de asma, bem como na presença de infeção respiratória, está provado existir um maior risco de exacerbação da asma em indivíduos sujeitos a *stress*.[\(58\)](#)

Ao nível do sistema cardiovascular temos talvez as consequências que mais nos preocupam em termos de patologia, sendo necessária a manutenção da integridade de todos os elementos da resposta ao *stress* para uma adequada resposta cardiovascular, tendo os neurónios noradrenérgicos  $\alpha_2$  do núcleo do trato solitário, um papel de vital importância na coordenação desta resposta.[\(62\)](#) Outro fator protetor cardiovascular na resposta ao *stress* é a existência de uma maior reatividade cardíaca ao *stress* agudo, através de um aumento imediato da frequência cardíaca juntamente com uma maior plasticidade arterial, os quais se encontram associados a menores níveis de aterosclerose.[\(76\)](#)

Estudos demonstraram também, que a perda de peso a curto prazo promove uma melhor resposta cardiovascular ao *stress*, com diminuição da pressão arterial, uma melhor recuperação da frequência cardíaca após exposição ao *stress*, bem como uma redução dos níveis circulantes de leptina e de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, sendo que estes efeitos mostraram ser muito mais significativos em mulheres.[\(77\)](#)

Em termos eletrocardiográficos o *stress* pode-se manifestar por arritmias, quer atriais, quer ventriculares, podendo também existir uma onda T alternante, bem como alterações da

amplitude e área da onda T e ainda alterações da largura do complexo QRS, sendo a arritmia mais frequente em indivíduos em stress, a fibrilhação auricular.(78) Graças a estes achados poderemos encontrar indivíduos suscetíveis de desenvolver estas alterações e reduzi-las através de técnicas redutoras de *stress*, nomeadamente através de atividades como o ioga.(78)

Foi também provado que a exposição a *stress* psicológico em ratos aumentou a sensibilidade do miocárdio a lesões isquémicas, tendo este resultado sido apenas verificado em ratos do sexo masculino, apresentando estes ratos uma menor recuperação contráctil após isquemia bem como uma maior área de enfarte em relação com as fêmeas e com os grupos controlo, frisando-se novamente as diferenças entre sexos na resposta ao *stress*.(79)

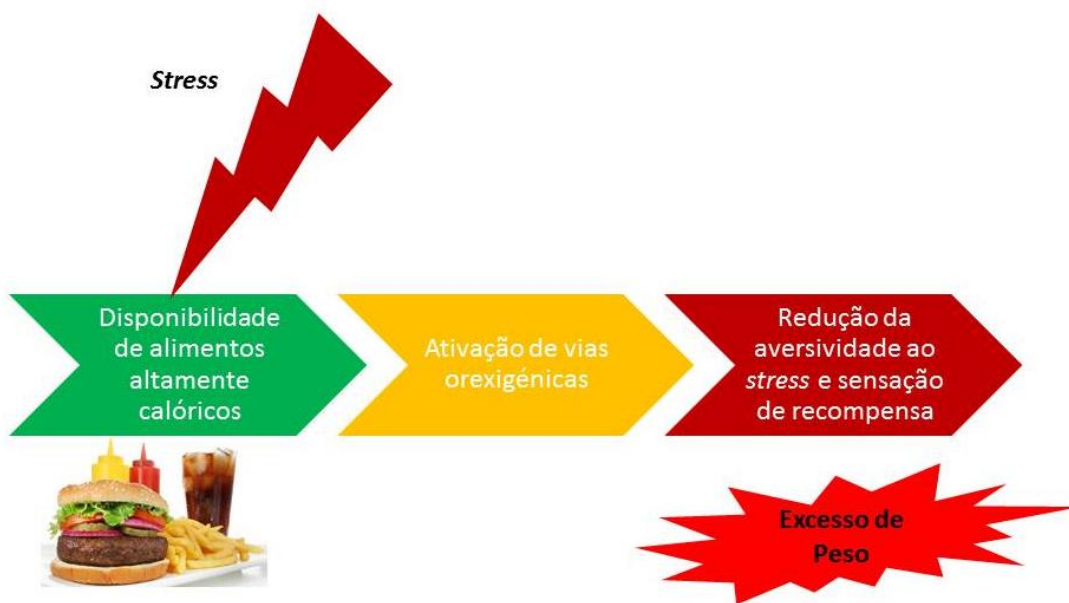
De salientar que o *stress* elevado, juntamente com a história familiar, a HTA, o tabagismo, as dislipidemias, a diabetes e o sedentarismo, é um dos fatores de risco *major* para o desenvolvimento de doença cardiovascular.(80)

No caso da diabetes, sabe-se que em indivíduos com diabetes tipo 2, existe um aumento da sensibilidade dos GRs e MRs aos glicocorticóides, conjuntamente com uma falência do mecanismo de habituação ao *stress*, que levaria a uma dessensibilização destes recetores, conduzindo assim a um pior controlo glicémico e a uma pior adaptação ao *stress*, com todas as consequências daí advindas.(46)

Em relação ao cancro, para além da já referida relação com os transposões, está também provado que a exposição às catecolaminas produzidas durante a resposta ao *stress*, provoca dano no DNA dos fibroblastos de ratos 3T3, alterando o seu fenótipo e estimulando a progressão tumoral, demonstrando uma forte relação entre os efeitos do *stress*, a instabilidade genómica e a vulnerabilidade tumoral.(61)

Adicionalmente o *stress* aumenta também o risco de dependências, bem como do uso de drogas de abuso e ainda aumenta o risco de recaída em situações de abstinência.(1)

Para finalizar é de referir que em termos de ingestão alimentar, o *stress* possui efeitos quer anorexigénicos, quer orexigénicos, ativando vias anorexigénicas, caso não existam alimentos altamente calóricos disponíveis ou ativando vias orexigénicas, na presença de alimentos altamente calóricos, estando estes últimos associados a uma redução da aversividade ao stress e a uma sensação de recompensa trazida pela comida, fazendo com que pessoas altamente stressadas sejam um grupo de risco para desenvolver obesidade e síndrome metabólico (Fig.8).(81)



**Figura 6 - Comportamento alimentar associado ao *stress*** – Indivíduos expostos a *stress*, com disponibilidade imediata de alimentos altamente calóricos tentam a sofrer a ativação de vias orexigénicas, que os leva a ingerir esses alimentos de forma a obterem uma redução da aversividade ao stress e uma sensação de recompensa. Estes indivíduos apresentam elevado risco para obesidade e síndrome metabólico.

Mais patologias possuem uma associação com o *stress*, contudo não serão abordadas neste trabalho.

### 3.9. Breve referência ao *stress* oxidativo e à sua relação com o *stress* psicológico

O *stress* oxidativo caracteriza-se por um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigénio (ROS) e a atividade e viabilidade dos mecanismos antioxidantes.(82) Sendo que, apesar de este se destacar do *stress* psicológico, que temos abordado, enquadra-se dentro dos eventos de *stress* fisiológico e encontra-se aumentado em situações de exposição a eventos de *stress* psicológico.(80)

As ROS possuem a capacidade de causar lesão em praticamente todos as macromoléculas do organismo, desde proteínas, lípidos, hidratos de carbono e DNA, sendo as lesões no DNA das mais preocupantes e estando relacionadas com o desenvolvimento de muita da patologia associada ao *stress* oxidativo, nomeadamente tumoral.(82)

A maior parte das células do organismo produz uma determinada quantidade de ROS quando exposta a agentes stressantes, nomeadamente com a presença de citocinas circulantes, catecolaminas, de angiotensina II ou de endotelina 1, pensando-se que esta resposta seja importante para a manutenção da homeostasia e na sinalização celular, sendo este equilíbrio em situações normais mantido pelo sistema glutaciona/glutaciona dissulfido.(83)

Apesar da sua importância na sinalização celular, há que ter em conta que as ROS apresentam um tempo de semivida extremamente curto, de forma a evitar os seus efeitos nocivos em situações não patológicas, contudo, a exposição ao *stress* leva a uma mais prolongada libertação de ROS, aumentando conseqüentemente o tempo de exposição da célula a estas, o que apresenta diversos efeitos deletérios, nomeadamente ao nível do sistema cardiovascular, através da lesão celular.(83)

Como acima referido, a exposição ao *stress*, é um fator de risco para obesidade e síndrome metabólica.(81) Sabe-se concomitantemente que o excesso de ácidos gordos livres em circulação provoca um aumento do *stress* oxidativo, sendo que um dos seus principais efeitos é a alteração não enzimática dos lípidos de membrana. Esta carga oxidativa está



relacionada com o desenvolvimento de diversas patologias psiquiátricas, como a depressão *major* e também com o desenvolvimento de patologia cardiovascular e com um estado de inflamação crônica, marcado por elevados níveis de TNF- $\alpha$  circulantes, sendo a inflamação crônica não só uma consequência de uma maior carga oxidativa, mas também uma provável origem, tendo um efeito potenciador sobre si própria. (84)

Verificou-se que o aumento da disponibilidade de NO tinha um efeito protetor do endotélio contra o *stress* oxidativo, abrindo-se portas para possíveis terapêuticas com substâncias dadoras de NO ou antioxidantes que são dirigidos à NADPH oxidase ou aos peptídeos Nox e Nox2, evitando o desacoplamento da eNOS. Outra possível terapêutica passa pela inibição da xantina oxidase através do alopurinol. De frisar, contudo que estas terapêuticas apenas se mostraram eficazes na redução das complicações cardiovasculares causadas pelo *stress* oxidativo em situações preventivas e não já com patologia estabelecida, podendo a administração contínua e desregada de antioxidantes ser prejudicial para o bom funcionamento da sinalização celular.(83)

A redução do *stress* psicológico, quer através de terapêuticas comportamentais e alterações do estilo de vida ou da toma de antidepressivos, juntamente com a prática de exercício físico, uma dieta saudável e perda de peso levam a uma redução significativa do *stress* oxidativo, com efeitos benéficos sem risco de afeção da sinalização celular, diminuindo a lesão celular e a inflamação causadas pelas ROS.(84)

Apesar de serem entidades distintas, verifica-se uma relação entre o *stress* psicológico e o *stress* oxidativo, abrindo-nos caminhos de investigação sobre os seus efeitos conjuntos.

#### 4. Discussão e Conclusão

Durante este trabalho constatou-se a existência de uma complexa rede de processos e de vias de sinalização implicada na resposta ao *stress*, desde agudo a crônico e desde fisiológico a psicológico/emocional, sendo que esta resposta pode ser integrada num único sistema, o sistema neuro-imuno-endócrino. O sistema neuro-imuno-endócrino engloba todos os processos e estruturas que sofrem alterações ou intervêm ativamente durante a exposição ao *stress*, desde o papel do SNC, à ação do HPA e dos glicocorticóides como seu produto final, bem como a libertação de catecolaminas e de outras hormonas e neurotransmissores e ainda as alterações imunológicas decorrentes, terminando nas patologias envolvidas em todo este processo, quer como moduladoras quer como uma consequência.(4)

O HPA representa o pilar principal na efetivação da resposta ao *stress*, começando com a produção de CRH no PVN em neurónios parvocelulares, seguindo para o sistema porta-hipofisário onde irá atuar na hipófise anterior estimulando a produção de ACTH, que por sua vez irá estimular a produção de glicocorticóides na zona reticulada do córtex da SR, sendo estes últimos os mediadores finais desta cadeia, que são responsáveis por diversas alterações no organismo, com um aumento acentuado da gluconeogénese, da lipólise e do catabolismo proteico, sendo que estes três processos irão ser a base da maior parte das manifestações clínicas de hipercortisolismo, como a obesidade central, a diabetes, a HTA, sobretudo diastólica, o hirsutismo, a depressão e outros sintomas psiquiátricos como a ansiedade e psicoses, a face em lua-cheia, o pescoço de búfalo, a pele frágil, com difícil cicatrização, as estrias violáceas, miopatia proximal, osteoporose, um estado de hipercoagulabilidade e, finalmente um estado de imunossupressão.(43)

As hormonas esteroides produzidas pelo organismo na resposta ao *stress* irão atuar sobretudo sobre dois tipos de recetores os GRs e os MRs (5) e graças à ação dos glicocorticóides sobre estes recetores é despoletado um mecanismo que *feedback* negativo

sobre o HPA, que pode ser um *feedback* tardio e de longa duração controlando os efeitos da CRH sobre o PVN ou um *feedback* rápido, mediado por elevadas concentrações de glicocorticóides ou dos seus agonistas, como a dexametasona, levando a uma rápida descida dos valores de ACTH, sendo este um dos mecanismos por detrás da necessidade de desmame, quando sob terapêutica com glicocorticóides, tendo também extrema importância no controlo da resposta aguda ao *stress*, evitando danos irreversíveis causados por uma demasiado elevada concentração de glicocorticóides.(8)

Como proteção contra os efeitos deletérios da exposição ao *stress* crónico, graças a uma distinção evolutiva entre *stress* ameaçador da vida e *stress* maioritariamente emocional, o organismo desenvolveu um mecanismo de habituação em que após exposição repetida ou prolongada a um determinado agente stressante não ameaçador da vida, se processa uma dessensibilização contra os efectores do HPA, nomeadamente a ACTH e os glicocorticóides,(10) juntamente com uma diminuição das suas concentrações, verificando-se inicialmente uma redução na concentração de cortisol, apenas mais tarde acompanhada por uma redução na concentração de ACTH, sugerindo mais mecanismos envolvidos no controlo do córtex da SR para além da ACTH, sendo a inervação autónoma desta, um dos responsáveis por esta dissociação.(11) Infelizmente este processo de habituação nem sempre se verifica ou funciona de forma ineficaz, dando origem a diversas alterações fisiológicas e suscetibilidade a diversas patologias, associadas a uma resposta crónica descompensada ao *stress*, sendo a Diabetes *Mellitus* tipo 2 uma das patologias onde a sensibilidade dos GRs e MRs aos glicocorticóides se encontra aumentada, não reduzindo após exposição repetida a um mesmo agente stressante, dificultando assim o controlo glicémico e aumentando as comorbilidades destes doentes.(46)

Apesar do papel essencial do HPA, todos os processos envolvidos na resposta ao *stress*, passam pelo SNC, em diversas estruturas envolvidas, como o CPF, o hipocampo, o

septo e o tálamo paraventricular,(13) o hipotálamo, que é uma estrutura fulcral no SNC na ativação da resposta ao *stress*, do qual os neurónios responsáveis pela ativação do HPA emergem do PVN do hipotálamo, encontrando-se preparado para coordenar as respostas autonómica, neuroendócrina e comportamental em situação de *stress*.(14) Temos ainda os núcleos ponto-medulares, núcleo da *Raphe* e *Locus Coeruleus* que comunicam com o SNA coordenando a sua resposta e finalmente, a amígdala expandida, que engloba o núcleo do leito da estria terminal, os núcleos central, basolateral e medial da amígdala, o hipocampo, a insula e o ACC medial, formando uma interface de comunicação entre o CPF, o córtex cingulado, a parte endócrina do hipotálamo e as vias de recompensa do *striatum*, envolvidas também na regulação autonómica entre o tronco cerebral e o SNP.(15) Sendo de crucial importância uma comunicação eficaz e regulada entre todas estas estruturas, nomeadamente a comunicação interhemisférica mediada por neurónios piramidais contendo GLU e GABA, havendo uma atrofia e diminuição da densidade das espinhas dendríticas em situações de exposição crónica ao *stress*, sobretudo à custa das espinhas dendríticas finas, uma vez que estas são muito mais imaturas e apresentam muito mais plasticidade que as espinhas dendríticas em forma de cogumelo, sendo a ativação crónica dos recetores NMDA uma das principais razões para esta atrofia, estando este processo associado com perdas de memória e com suscetibilidade a diversas doenças psiquiátricas, como distúrbios de ansiedade.(16) De referir ainda que apesar da sua menor diminuição de densidade, as espinhas dendríticas em forma de cogumelo também sofrem diversas alterações aquando da sua exposição ao *stress*.(22)

Adicionalmente o *stress* crónico leva também a uma diminuição da dopamina e dos seus recetores D1,(17) verificando-se também um aumento da apoptose ao nível do hipocampo em neurónios GABAérgicos que expressam parvalbumina, bem como uma redução da proteína NCAM e dos seus efeitos neuroprotetores, associados a distúrbios comportamentais e ansiedade.(26)

Contrariamente aos neurónios piramidais, diversos interneurónios apresentam um aumento da sua arborização dendrítica como efeito de compensação da atrofia causada pelo *stress*.(23)

A produção de ENC no ACC apresenta efeitos atenuantes em relação à ansiedade e a outros efeitos aversivos causados pelo *stress*.(31)

Em termos agudos, o *stress*, graças à ativação de GRs e de uma sinalização retrógrada de NO, leva a aumento das CIPs no hipocampo, que estimulam transmissões GABAérgicas, contudo em termos crónicos este processo não se verifica havendo uma propensão para diversas patologias psiquiátricas como a esquizofrenia.(36)

Importante de reter também, é a dissociação entre o cortisol e a ACTH, uma vez que substâncias como vários neuropeptídeos, neurotransmissores, fatores de crescimento, opióides, citocinas, adipocinas e mesmo substâncias bacterianas têm um efeito de regular a função das SRs, tendo estas também um controlo parácrino muito complexo, estando a sua inervação intimamente conectada com o seu crescimento e função.(12) Outro processo importante onde se verifica esta dissociação é o ritmo circadiano do cortisol, havendo um aumento das concentrações de cortisol circulante durante os períodos de luz, não acompanhado pelo mesmo aumento de ACTH e nos momentos finais do sono do indivíduo foi observado um aumento de ACTH não acompanhado pelo cortisol.(47) É ainda fundamental referir o exercício físico de longa duração como fator de dissociação, permitindo uma muito melhor e controlada resposta ao *stress*, diferenciando entre agudo ou crónico. (12)

Contrariamente à atrofia acima referida em termos agudos o cortisol é importante para a formação e maturação de diversas estruturas neuronais, bem como na facilitação de formação e consolidação de memórias, quer de trabalho, quer a longo prazo e melhoram diversas vias de transmissão neuronais, nomeadamente de GLU, contudo as oscilações do

cortisol causadas por uma exposição a *stress* crônico aumentam a suscetibilidade para diversas patologias.(42)

Em termos imunitários o *stress*, provoca um estado predominantemente de imunossupressão, contudo este está também associado a estados pró-inflamatórios crônicos, com suscetibilidade de desenvolver determinadas doenças autoimunes como a diabetes, a artrite reumatoide e a doença de crohn, graças à estimulação de diversas citocinas pró-inflamatórias e a um desequilíbrio entre as diversas células imunitárias,(54, 57) sendo que a terapia cognitiva comportamental, a realização de exercício aeróbio, a meditação e o Tai Chi Chih são medidas comportamentais que mostraram ter efeitos positivos na redução da suscetibilidade a doenças autoimunes causada pelo *stress*.(52)

As catecolaminas são também essenciais na resposta ao *stress* e possuem entre outros, um papel modulador no sistema imunitário, pela regulação do fator de transcrição nuclear NF- $\kappa$ B, a qual não se sabe ser benéfica ou prejudicial,(59) por um tráfico contínuo e aumento da sobrevivência das células polimorfonucleares em feridas, sendo uma possível via de investigação para a terapêutica de feridas crônicas ou de difícil cicatrização,(60) possuem um papel muito importante no transporte de IgA nas vias respiratórias em situação de infecção respiratória, melhorando o prognóstico destas e diminuindo as suas complicações (63) e em situações agudas estimulam a acumulação de células NK prontas a atuar.(64)

Adicionalmente, as catecolaminas são importantes mediadores dos efeitos do *stress* na instabilidade e vulnerabilidade do genoma e na oncogênese, estando associadas a diversos danos no DNA a longo prazo.(61) Também são de crucial importância para uma adequada resposta cardiovascular e ativação do HPA em situações de *stress* agudo, e em situações de *stress* crônico são necessárias para manter um controlo autonómico a longo prazo sobre um estímulo de stress contínuo, diminuindo a ativação simpática constante presente nestas

situações, através da atuação em recetores  $\alpha_2$ , sendo de vital importância para a prevenção de patologia cardíaca em patologias associadas ao *stress*, como é o caso da depressão.(62)

Em termos de desenvolvimento, a exposição pré-natal ao *stress* tem diversos efeitos a longo prazo no feto, conferindo suscetibilidade a diversas patologias na idade adulta, desde doenças psiquiátricas como distúrbios da ansiedade ou esquizofrenia a outras doenças orgânicas como a asma e outras atopias ou alterações cardiovasculares e diabetes, sendo ainda de salientar que a maioria destas alterações tem um impacto muito mais pronunciado em indivíduos do sexo masculino.(65-72)

A resposta ao *stress* está ainda dependente de diversos mecanismos genéticos genómicos e não genómicos, bem como epigenéticos, sendo responsáveis pela enorme diversidade fenotípica na resposta ao *stress*, onde alterações tão simples como polimorfismos, que se diferenciam em apenas uma única base podem levar a fenótipos favoráveis, com bons controlos metabólicos ou completamente o oposto.(73)

Todas estas alterações e mecanismos da resposta ao *stress* podem predispor a diversas patologias em praticamente todos os órgãos e sistemas, como o sistema cardiovascular, o sistema músculo-esquelético, o sistema pulmonar, o sistema imunitário, o sistema gastrointestinal, o sistema génito-urinário, o sistema endócrino, o sistema nervoso central e a pele.(3) Existindo em todos eles diversas vias de atuação a explorar para melhorar os *outcomes* das patologias nestes órgãos e sistemas.

Existe ainda um ação de potenciação entre o *stress* psicológico e o *stress* oxidativo, que funciona nas duas direções, abrindo imensos caminhos para explorar estes efeitos e reduzir o seu impacto na saúde, sabendo que um estilo de vida com técnicas de relaxamento, exercício físico e uma dieta saudável já apresentam resultados bastante satisfatórios em indivíduos com potencial aterogénico por *stress* oxidativo.(84)

Em conclusão toda a resposta ao *stress* passa por uma complexa rede de comunicações e reações que envolve os diversos órgãos e sistemas, principalmente os sistemas nervoso, endócrino e imunitário, que se interligam de forma tão íntima nestes processos que se pode dizer que formam um só sistema, tendo impacto em toda a saúde do indivíduo, quer na sua manutenção, quer em casos de falência na suscetibilidade à doença.

Por limitação de palavras cada capítulo foi apenas superficialmente abordado podendo cada um deles ser tema para desenvolvimento de um outro trabalho de revisão, bem como a conexão de cada patologia referida ao longo deste trabalho com o *stress*. Apesar de não terem tido um capítulo próprio, mas por terem sido diversas vezes referidos neste trabalho e pela sua importância na resposta ao *stress*, o papel dos GRs e MRs na resposta ao *stress*, seria também um bom tema a desenvolver e finalmente todas as áreas referidas abrem imensas portas para investigação de forma a encontrar mecanismos de melhor controlar a resposta ao *stress* e as suas consequências para a saúde.



## 5. Referências

1. Sinha R. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1141:105-30.
2. Sinha R, Jastreboff AM. Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biol Psychiatry.* 2013;73(9):827-35.
3. Figueira J. Fisiopatologia do Stress. In: Mota Pinto A, editor. *Fisiopatologia - Fundamentos e Aplicações.* 2. Coimbra: Lidel; 2007. p. 285-92.
4. McEwen BS, Gray JD, Nasca C. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: Redefining neuroendocrinology: stress, sex and cognitive and emotional regulation. *J Endocrinol.* 2015;226(2):T67-83.
5. McEwen BS. Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1204 Suppl:E38-59.
6. Armario A, Daviu N, Munoz-Abellan C, Rabasa C, Fuentes S, Belda X, et al. What can we know from pituitary-adrenal hormones about the nature and consequences of exposure to emotional stressors? *Cell Mol Neurobiol.* 2012;32(5):749-58.
7. Andrews MH, Wood SA, Windle RJ, Lightman SL, Ingram CD. Acute glucocorticoid administration rapidly suppresses basal and stress-induced hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity. *Endocrinology.* 2012;153(1):200-11.
8. Atkinson HC, Wood SA, Castrique ES, Kershaw YM, Wiles CC, Lightman SL. Corticosteroids mediate fast feedback of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis via the mineralocorticoid receptor. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism.* 2008;294(6):E1011-22.
9. Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiological reviews.* 2009;89(2):535-606.
10. Rabasa C, Gagliano H, Pastor-Ciurana J, Fuentes S, Belda X, Nadal R, et al. Adaptation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis to daily repeated stress does not follow the rules of habituation: A new perspective. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;56:35-49.
11. Masini CV, Day HE, Gray T, Crema LM, Nyhuis TJ, Babb JA, et al. Evidence for a lack of phasic inhibitory properties of habituated stressors on HPA axis responses in rats. *Physiol Behav.* 2012;105(2):568-75.
12. Bornstein SR, Engeland WC, Ehrhart-Bornstein M, Herman JP. Dissociation of ACTH and glucocorticoids. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM.* 2008;19(5):175-80.
13. Radley JJ, Anderson RM, Hamilton BA, Alcock JA, Romig-Martin SA. Chronic stress-induced alterations of dendritic spine subtypes predict functional decrements in an hypothalamo-pituitary-adrenal-inhibitory prefrontal circuit. *J Neurosci.* 2013;33(36):14379-91.
14. Handa RJ, Weiser MJ. Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Front Neuroendocrinol.* 2014;35(2):197-220.
15. Contoreggi C. Corticotropin releasing hormone and imaging, rethinking the stress axis. *Nucl Med Biol.* 2015;42(4):323-39.
16. Luczynski P, Moquin L, Gratton A. Chronic stress alters the dendritic morphology of callosal neurons and the acute glutamate stress response in the rat medial prefrontal cortex. *Stress.* 2015;18(6):654-67.
17. Lupinsky D, Moquin L, Gratton A. Interhemispheric regulation of the medial prefrontal cortical glutamate stress response in rats. *J Neurosci.* 2010;30(22):7624-33.
18. Bloss EB, Janssen WG, Ohm DT, Yuk FJ, Wadsworth S, Saardi KM, et al. Evidence for reduced experience-dependent dendritic spine plasticity in the aging prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2011;31(21):7831-9.
19. McKinney RA. Excitatory amino acid involvement in dendritic spine formation, maintenance and remodelling. *The Journal of physiology.* 2010;588(Pt 1):107-16.
20. Koleske AJ. Molecular mechanisms of dendrite stability. *Nature reviews Neuroscience.* 2013;14(8):536-50.

21. Mateos JM, Luthi A, Savic N, Stierli B, Streit P, Gahwiler BH, et al. Synaptic modifications at the CA3-CA1 synapse after chronic AMPA receptor blockade in rat hippocampal slices. *The Journal of physiology*. 2007;581(Pt 1):129-38.
22. Cerqueira JJ, Taipa R, Uylings HB, Almeida OF, Sousa N. Specific configuration of dendritic degeneration in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex induced by differing corticosteroid regimens. *Cerebral cortex*. 2007;17(9):1998-2006.
23. Gilabert-Juan J, Castillo-Gomez E, Guirado R, Molto MD, Nacher J. Chronic stress alters inhibitory networks in the medial prefrontal cortex of adult mice. *Brain structure & function*. 2013;218(6):1591-605.
24. Hu W, Zhang M, Czeh B, Flugge G, Zhang W. Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2010;35(8):1693-707.
25. Varea E, Castillo-Gomez E, Gomez-Clement MA, Blasco-Ibanez JM, Crespo C, Martinez-Guijarro FJ, et al. PSA-NCAM expression in the human prefrontal cortex. *Journal of chemical neuroanatomy*. 2007;33(4):202-9.
26. Jurgenson M, Aonurm-Helm A, Zharkovsky A. Partial reduction in neural cell adhesion molecule (NCAM) in heterozygous mice induces depression-related behaviour without cognitive impairment. *Brain Res*. 2012;1447:106-18.
27. Xu X, Roby KD, Callaway EM. Immunohistochemical characterization of inhibitory mouse cortical neurons: three chemically distinct classes of inhibitory cells. *The Journal of comparative neurology*. 2010;518(3):389-404.
28. Gilabert-Juan J, Castillo-Gomez E, Perez-Rando M, Molto MD, Nacher J. Chronic stress induces changes in the structure of interneurons and in the expression of molecules related to neuronal structural plasticity and inhibitory neurotransmission in the amygdala of adult mice. *Experimental neurology*. 2011;232(1):33-40.
29. van Dongen YC, Deniau JM, Pennartz CM, Galis-de Graaf Y, Voorn P, Thierry AM, et al. Anatomical evidence for direct connections between the shell and core subregions of the rat nucleus accumbens. *Neuroscience*. 2005;136(4):1049-71.
30. Bilkei-Gorzo A, Racz I, Michel K, Mauer D, Zimmer A, Klingmuller D, et al. Control of hormonal stress reactivity by the endogenous opioid system. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(4):425-36.
31. Barbano MF, Cador M. Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology*. 2007;191(3):497-506.
32. Lucas LR, Wang CJ, McCall TJ, McEwen BS. Effects of immobilization stress on neurochemical markers in the motivational system of the male rat. *Brain Res*. 2007;1155:108-15.
33. Poulin JF, Laforest S, Drolet G. Enkephalin downregulation in the nucleus accumbens underlies chronic stress-induced anhedonia. *Stress*. 2014;17(1):88-96.
34. Maggio N, Segal M. Differential corticosteroid modulation of inhibitory synaptic currents in the dorsal and ventral hippocampus. *J Neurosci*. 2009;29(9):2857-66.
35. Foldy C, Lee SY, Szabadics J, Neu A, Soltesz I. Cell type-specific gating of perisomatic inhibition by cholecystokinin. *Nature neuroscience*. 2007;10(9):1128-30.
36. Lodge DJ, Behrens MM, Grace AA. A loss of parvalbumin-containing interneurons is associated with diminished oscillatory activity in an animal model of schizophrenia. *J Neurosci*. 2009;29(8):2344-54.
37. Becker C, Zeau B, Rivat C, Blugeot A, Hamon M, Benoliel JJ. Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. *Molecular psychiatry*. 2008;13(12):1079-92.
38. Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Hauer D, Schelling G, McGaugh JL, et al. Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(12):4888-93.
39. Son Y, Yang M, Wang H, Moon C. Hippocampal dysfunctions caused by cranial irradiation: a review of the experimental evidence. *Brain Behav Immun*. 2015;45:287-96.

40. Hoffman AN, Anouti DP, Lacagnina MJ, Nikulina EM, Hammer RP, Jr., Conrad CD. Experience-dependent effects of context and restraint stress on corticolimbic c-Fos expression. *Stress*. 2013;16(5):587-91.
41. Droste SK, de Groote L, Atkinson HC, Lightman SL, Reul JM, Linthorst AC. Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress. *Endocrinology*. 2008;149(7):3244-53.
42. Hall BS, Moda RN, Liston C. Glucocorticoid Mechanisms of Functional Connectivity Changes in Stress-Related Neuropsychiatric Disorders. *Neurobiol Stress*. 2015;1:174-83.
43. Jameson JL, Harrison TR. *Harrison's endocrinology*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013. ix, 549 p. p.
44. Jayasinghe SU, Lambert GW, Torres SJ, Fraser SF, Eikelis N, Turner AJ. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis and sympatho-adrenal medullary system responses to psychological stress were not attenuated in women with elevated physical fitness levels. *Endocrine*. 2015.
45. Morris MC, Rao U. Cortisol response to psychosocial stress during a depressive episode and remission. *Stress*. 2014;17(1):51-8.
46. Carvalho LA, Urbanova L, Hamer M, Hackett RA, Lazzarino AI, Steptoe A. Blunted glucocorticoid and mineralocorticoid sensitivity to stress in people with diabetes. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;51:209-18.
47. Ishida A, Mutoh T, Ueyama T, Bando H, Masubuchi S, Nakahara D, et al. Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release. *Cell metabolism*. 2005;2(5):297-307.
48. Choi DC, Furay AR, Evanson NK, Ostrander MM, Ulrich-Lai YM, Herman JP. Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. *J Neurosci*. 2007;27(8):2025-34.
49. Barsegyan A, Mackenzie SM, Kurose BD, McGaugh JL, Roozendaal B. Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(38):16655-60.
50. Liston C, Cichon JM, Jeanneteau F, Jia Z, Chao MV, Gan WB. Circadian glucocorticoid oscillations promote learning-dependent synapse formation and maintenance. *Nature neuroscience*. 2013;16(6):698-705.
51. Miller GE, Chen E, Zhou ES. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological bulletin*. 2007;133(1):25-45.
52. Irwin MR, Cole SW. Reciprocal regulation of the neural and innate immune systems. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(9):625-32.
53. Collado-Hidalgo A, Sung C, Cole S. Adrenergic inhibition of innate anti-viral response: PKA blockade of Type I interferon gene transcription mediates catecholamine support for HIV-1 replication. *Brain Behav Immun*. 2006;20(6):552-63.
54. Carlsson E, Frostell A, Ludvigsson J, Faresjo M. Psychological stress in children may alter the immune response. *J Immunol*. 2014;192(5):2071-81.
55. Harpaz I, Abutbul S, Nemirovsky A, Gal R, Cohen H, Monsonego A. Chronic exposure to stress predisposes to higher autoimmune susceptibility in C57BL/6 mice: glucocorticoids as a double-edged sword. *European journal of immunology*. 2013;43(3):758-69.
56. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*. 2003;8(3):223-46.
57. Marwaha AK, Crome SQ, Panagiotopoulos C, Berg KB, Qin H, Ouyang Q, et al. Cutting edge: Increased IL-17-secreting T cells in children with new-onset type 1 diabetes. *J Immunol*. 2010;185(7):3814-8.
58. Trueba AF, Ritz T. Stress, asthma, and respiratory infections: pathways involving airway immunology and microbial endocrinology. *Brain Behav Immun*. 2013;29:11-27.
59. Kolmus K, Tavernier J, Gerlo S. beta2-Adrenergic receptors in immunity and inflammation: stressing NF-kappaB. *Brain Behav Immun*. 2015;45:297-310.

60. Kim MH, Gorouhi F, Ramirez S, Granick JL, Byrne BA, Soulika AM, et al. Catecholamine stress alters neutrophil trafficking and impairs wound healing by beta2-adrenergic receptor-mediated upregulation of IL-6. *J Invest Dermatol.* 2014;134(3):809-17.
61. Flint MS, Baum A, Episcopo B, Knickelbein KZ, Liegey Dougall AJ, Chambers WH, et al. Chronic exposure to stress hormones promotes transformation and tumorigenicity of 3T3 mouse fibroblasts. *Stress.* 2013;16(1):114-21.
62. Bundzikova-Osacka J, Ghosal S, Packard BA, Ulrich-Lai YM, Herman JP. Role of nucleus of the solitary tract noradrenergic neurons in post-stress cardiovascular and hormonal control in male rats. *Stress.* 2015;18(2):221-32.
63. Ali A, Diebel L, Liberati D. Stress hormone epinephrine increases IgA transport across respiratory epithelial surfaces. *J Am Coll Surg.* 2014;218(3):450-8.
64. Bigler MB, Egli SB, Hysek CM, Hoenger G, Schmied L, Baldin FS, et al. Stress-Induced In Vivo Recruitment of Human Cytotoxic Natural Killer Cells Favors Subsets with Distinct Receptor Profiles and Associates with Increased Epinephrine Levels. *PLoS One.* 2015;10(12):e0145635.
65. Entringer S, Buss C, Wadhwa PD. Prenatal stress, development, health and disease risk: A psychobiological perspective-2015 Curt Richter Award Paper. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;62:366-75.
66. Maccari S, Darnaudery M, Morley-Fletcher S, Zuena AR, Cinque C, Van Reeth O. Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* 2003;27(1-2):119-27.
67. Grundwald NJ, Brunton PJ. Prenatal stress programs neuroendocrine stress responses and affective behaviors in second generation rats in a sex-dependent manner. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;62:204-16.
68. Paris JJ, Brunton PJ, Russell JA, Frye CA. Immune stress in late pregnant rats decreases length of gestation and fecundity, and alters later cognitive and affective behaviour of surviving pre-adolescent offspring. *Stress.* 2011;14(6):652-64.
69. Howerton CL, Bale TL. Prenatal programming: at the intersection of maternal stress and immune activation. *Horm Behav.* 2012;62(3):237-42.
70. Brunton PJ, Donadio MV, Yao ST, Greenwood M, Seckl JR, Murphy D, et al. 5alpha-Reduced neurosteroids sex-dependently reverse central prenatal programming of neuroendocrine stress responses in rats. *J Neurosci.* 2015;35(2):666-77.
71. Drake AJ, Tang JI, Nyirenda MJ. Mechanisms underlying the role of glucocorticoids in the early life programming of adult disease. *Clinical science.* 2007;113(5):219-32.
72. Vento M, Aguar M, Escobar J, Arduini A, Escrig R, Brugada M, et al. Antenatal steroids and antioxidant enzyme activity in preterm infants: influence of gender and timing. *Antioxidants & redox signaling.* 2009;11(12):2945-55.
73. Oakley RH, Cidlowski JA. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(5):1033-44.
74. Hunter RG, Gagnidze K, McEwen BS, Pfaff DW. Stress and the dynamic genome: Steroids, epigenetics, and the transposome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(22):6828-33.
75. Vaisvaser S, Modai S, Farberov L, Lin T, Sharon H, Gilam A, et al. Neuro-Epigenetic Indications of Acute Stress Response in Humans: The Case of MicroRNA-29c. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146236.
76. Chumaeva N, Hintsanen M, Pulkki-Raback L, Merjonen P, Elovainio M, Hintsala T, et al. Stress-induced cardiac autonomic reactivity and preclinical atherosclerosis: does arterial elasticity modify the association? *Stress.* 2015;18(6):622-30.
77. Endrighi R, Hamer M, Hackett RA, Carvalho LA, Jackson SE, Wardle J, et al. Effect of short-term weight loss on mental stress-induced cardiovascular and pro-inflammatory responses in women. *Stress.* 2015;18(5):602-6.
78. Lampert R. ECG signatures of psychological stress. *J Electrocardiol.* 2015;48(6):1000-5.
79. Rorabaugh BR, Krivenko A, Eisenmann ED, Bui AD, Seeley S, Fry ME, et al. Sex-dependent effects of chronic psychosocial stress on myocardial sensitivity to ischemic injury. *Stress.* 2015;18(6):645-53.

80. Jazwiec P, Gac P, Jurdziak M, Poreba M, Mazur G, Sobieszczanska M, et al. Volume of carotid bodies and cardiac autonomic function in patients with essential hypertension. *Auton Neurosci*. 2015;190:26-32.
81. Bazhan N, Zelena D. Food-intake regulation during stress by the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Brain Res Bull*. 2013;95:46-53.
82. Czerska M, Mikolajewska K, Zielinski M, Gromadzinska J, Wasowicz W. Today's oxidative stress markers. *Med Pr*. 2015;66(3):393-405.
83. Taverne YJ, Bogers AJ, Duncker DJ, Merkus D. Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:862423.
84. Assies J, Mocking RJ, Lok A, Ruhe HG, Pouwer F, Schene AH. Effects of oxidative stress on fatty acid- and one-carbon-metabolism in psychiatric and cardiovascular disease comorbidity. *Acta Psychiatr Scand*. 2014;130(3):163-80.