

## HYPOTHALAMIC–HYPOPHYSEAL–ADRENOCORTICAL AXIS: ORGANIZATION, DYNAMIC ASPECTS AND STRESS EFFECT TO CRH NEURON ACTIVITY

KISS A

### HYPOTALAMO—HYPOFÝZO—ADRENOKORTIKÁLNA OS: ORGANIZÁCIA, DYNAMICKÉ ASPEKTY A VPLYV STRESU NA AKTIVITU CRH NEURÓNU

#### Abstract

##### Kiss A:

**Hypothalamic—hypophyseal—adrenocortical axis: organization, dynamic aspects and stress effect to CRH neuron activity**

Bratisl Lek Listy 1999; 100 (11): 611–624

**Hypothalamic—hypophyseal—adrenocortical (HPA) axis, often termed stress axis, together with the peripheral sympathetic nervous system and the adrenomedullary hormonal system very sensitively and promptly responds to both external and internal stimuli endangering homeostasis. HPA helps to maintain the physiological equilibrium. The HPA axis forms the first line in the protection of the organism, monitoring the negative factors affecting the stability of the organism by responding by secretion of glucocorticoids. The exaggerated activity of HPA axis is harmful for the organism since it induces a number of disorders including hyperlipidemia, muscle atrophy, hypertension etc., not excluding brain damage. The alterations of the HPA axis lead to hypersecretion of glucocorticoids which may play an important role in the pathology of psychical and neurological diseases. (Tab. 3, Fig. 2, Ref. 31.)**

**Key words: corticoliberine (CRH), CRH mRNA, CRH receptors, glucocorticoids, diurnal rhythm, lactation, gender, stress.**

#### Organizácia HHA osi

HHA os tvoria tri skôr funkčne ako anatomicky úzko prepojené štruktúry — hypotalamus, hypofýza a nadobličky (8). Sekretácia finálneho produktu HHA osi, t.j. kortizolu u človeka alebo kortikosterónu u potkana, do periférnej cirkulácie prebieha z buniek *zona fascicularis* kôry nadobličiek (obr. 1). Tento proces je takmer výlučne riadený plazmatickým adrenokortikotropným hormónom (ACTH), ktorý produkuje asi 10 % buniek adenohipofýzy. Regulačne podliehajú kortikotropné bunky hypofýzy neuropepti-

#### Abstrakt

##### Kiss A.:

**Hypotalamo—hypofýzo—adrenokortikálna os: organizácia, dynamické aspekty a vplyv stresu na aktivitu CRH neurónu**

Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 11, s. 611–624

Hypotalamo—hypofýzo—adrenokortikálna (HHA) os, často v kruhu odborníkov nazývaná aj ako tzv. stresová os, spolu s periférnym sympatikovým nervovým systémom a adrenomedulárnym hormonálnym systémom, veľmi citlivo a promptne reaguje na vonkajšie a vnútorné podnety, ktoré vedú k narušeniu homeostázy organizmu. HHA os slúži na udržanie rovnovážneho stavu. Často sa uvádza, že HHA os tvorí prvú líniu organizmu, ktorá zaznamenáva negatívne faktory ohrozujúce organizmus a odpovedá na ne sekreciou glukokortikoidov. Nadmerná aktivita HHA osi je škodlivá pre organizmus, pretože spôsobuje viaceré poruchy, ako sú hyperlipidémia, atrofia svalov, hypertenzia, nevynímajúc poškodenie mozgu. Poruchy v regulačných oblastiach HHA osi vedú k hypersekrečii glukokortikoidov, ktorá môže mať významnú úlohu v patológii psychických a neurologických ochorení. (Tab. 3, obr. 2, lit. 31.)

**Kľúčové slová: kortikoliberín (CRH), CRH mRNA, CRH receptory, glukokortikoidy, cirkadiálny rytmus, laktácia, pohlavie, stres.**

dom, ktoré sa tvoria v hypotalame. Obyčajne ide o viac typov regulačných neuropeptidov, ktorých individuálna účasť alebo vzájomná kombinácia závisí od charakteru stresového podnetu (1, 112).

Neuropeptidy sa dopravujú k ACTH bunkám hypofýzy kombinovaným transportom. Po oblasť tzv. *eminentia mediana*, ktorá anatomicky reprezentuje dno spodnej časti tretej mozgovej komory rozprestierajúcej sa bezprostredne pred stopkou hypofýzy, sa hypotalamické neuropeptidy dopravujú axónovým transportom (75). V oblasti *eminentia mediana*, ktorá je zvláštna aj tým, že má priamy kontakt s mozgovou komorou a obsahuje fenestrovane

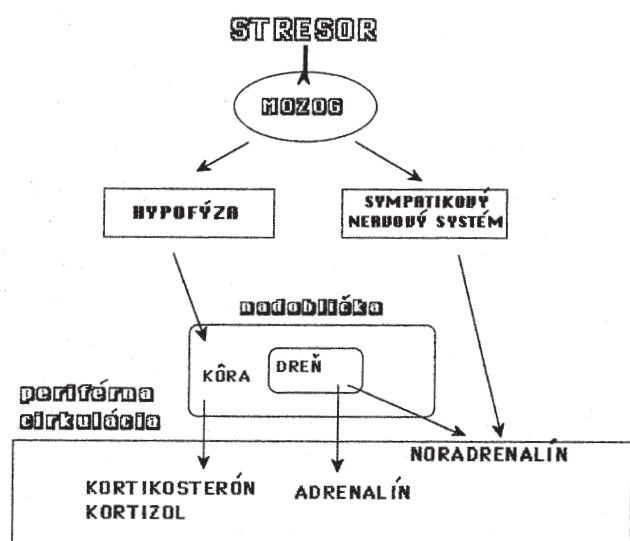


Fig. 1. Scheme of the two most important stress systems: hypothalamic—hypophyseal—adrenocortical, which promptly reacts to various stress factors with increased secretion of plasmatic cortisol/corticosterone from adrenal cortex, and sympathoadrenomedullary reacting to stressors by increasing the plasma adrenalin levels released from adrenal medulla and noradrenalin from peripheral sympathetic nerve endings.

Obr. 1. Schematický náčrt dvoch ústredných stresových systémov: hypotalamo—hypofýzo—adrenokortikálneho, ktorý promptne reaguje na rôzne stresory zvýšenou sekréciou plazmatického kortizolu/kortikosterónu z kôry nadobličiek a sympato—adrenomedulárneho, ktorý reaguje na stresor zvýšením plazmatických hladín adrenalínu z drene nadobličiek a noradrenalínu z periférnych zakončení sympatikového nervového systému.

kapiláry, ktoré ju zaraďujú medzi tzv. cirkumventrikulárne bezbariérové zóny mozgu, dochádza k uvoľňovaniu neuropeptidov z nervových zakončení do krvného riečiska tzv. portálneho hypotalamo—hypofýzového systému (obr. 2) (54). Tento špeciálny cirkulačný systém zabezpečujúci humorálnu komunikáciu medzi tuberoinfundibulárnou oblasťou hypotalamu (oblasť *nucleus hypothalamicus arcuatus a eminentia mediana*) a adenohipofýzou predstavuje najvýznamnejšiu nielen anatomickú, ale aj funkčnú spojnicu medzi centrálnym nervovým systémom a periférnou endokrinnou sústavou.

Neuropeptid, ktorý má ústrednú úlohu v regulácii ACTH u mnohých živočíšnych druhov, pričom u človeka a potkana je tým najdôležitejším faktorom regulujúcim sekréciu ACTH, je kortikotropný uvoľňujúci hormón, t.j. kortikoliberín (corticotropin-releasing hormone, CRH).

CRH, ktorý je známy od roku 1981, je hlavným integrátorom a koordinátorom stresovej reakcie a hlavným regulátorom sekrécie ACTH (26, 111) a navyše je to zatiaľ jediný neuropeptid, ktorého regulačný účinok pôsobí aj priamo na úrovni génu prekurzorovej molekuly ACTH, t.j. proopiomelanokortínu (POMC) a stimuluje jeho transkripciu a transláciu v adenohipofýze. CRH však nie je dominujúcim regulačným faktorom ACTH u všetkých živočíšnych druhov. Vazopresín (AVP) je jedným z najvýznamnejších kostimulačných faktorov CRH (32). Hoci samotný AVP nie je vo všeobecnosti priamym stimulatorom sekrécie ACTH, oba hormóny pôsobia navzájom

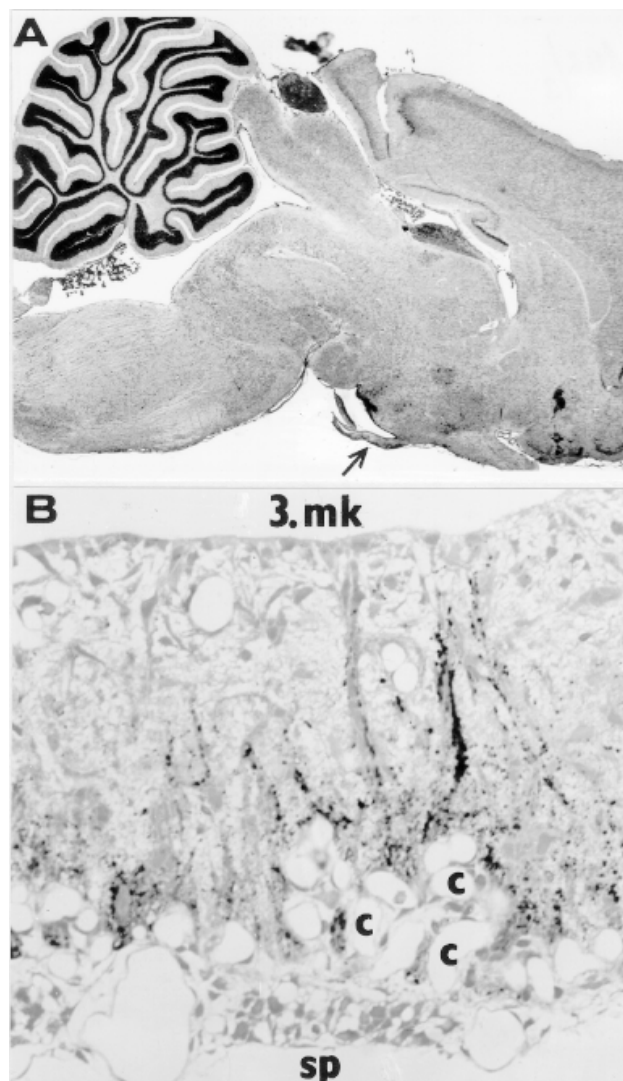


Fig. 2A. Histogram of eminentia mediana localization (arrow) on sagittal section of rat brain. B. Detailed view on nerve endings of siCRH neuron distribution in the area of eminentia mediana. Endings containing CRH neuropeptide (black deposit) are densely concentrated in perivascular area of hypothalamic—hypophyseal portal vessels (PHHS). 3.mk — lumen of the third brain ventricle lower part, c — transversal section through the vessels of PHHS, sp — subarachnoidal space.

Obr. 2A. Histogram znázorňujúci lokalizáciu eminentia mediana (šípka) na sagitálnom reze mozgom potkana. B. Detailný pohľad na distribúciu nervových zakončení siCRH neurónu v oblasti eminentia mediana. Zakončenia obsahujúce CRH neuropeptid (pozri čierny depozit) sú husto koncentrované v perivaskulárnej oblasti portálnych ciev hypotalamo—hypofýzového systému (PHHS). 3.mk — lúmen dolnej časti III. mozgovej komory, c — priečný rez cievami PHHS, sp — subarachnoidálny priestor.

stimulačne (33) a navyše ich účinok na ACTH bunky je synergistický, napr. u oviec CRH a vazopresín (AVP) sú prinajmenšom ekvipotentné v ich účinkoch na sekréciu ACTH (27). Ich sekretorický pomer však môže značne variovať v závislosti od druhu živočicha a typu stresora. Mnohé situácie, ako napríklad adrenalectómia (98), opa-

## AFERENTNÉ SPOJE PVN

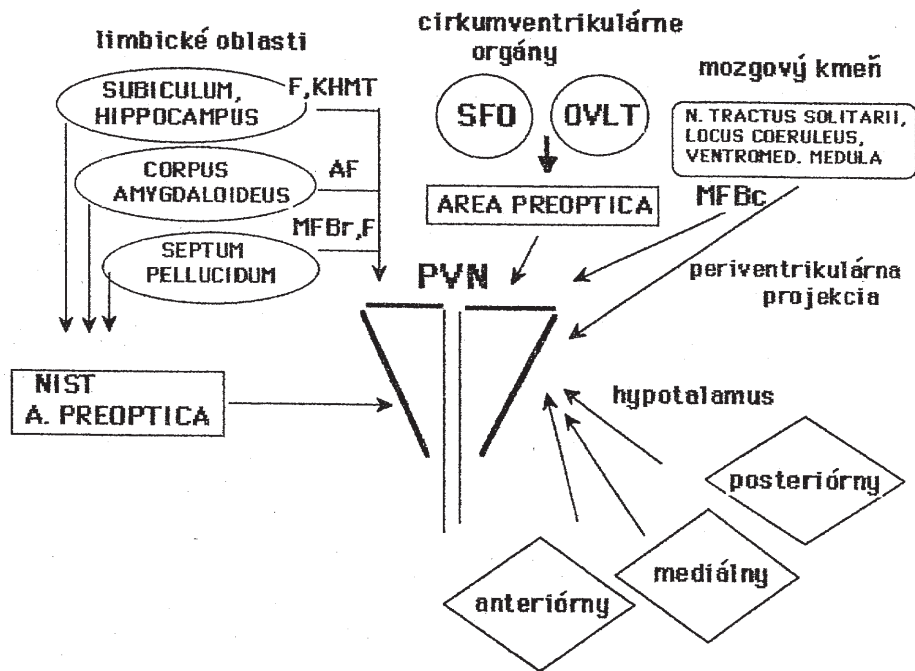


Fig. 3. Most important afferent connections of n. hypothalamic paraventricularis (PVN). Ascendent projections are mainly from aminergic and peptidergic areas of brain stem such as n. tractus solitarius, ventrolateral area of medulla oblongata and locus coeruleus. Intrahypothalamic contacts are mostly derived from hypothalamic nuclei. Descendent projections come from limbic areas such as subiculum, hippocampus, corpus amygdaloideus and septum pellucidum, which create monosynaptic or bi- and polysynaptic connections with PVN through structures localized in n. interstitialis striae terminalis and area preoptica. Information about circulation reach the PVN neurons through circumventricular organs such as organon subfornicale (SFO) and organum vasculosum laminae terminalis (OVLT). F — fornix, KHMT — corticohypothalamic medial tract, AF — amygdalofungal tract, rostral (MFBr) and caudal (MFBc) part of MFB tract.

Obr. 3. Najvýznamnejšie aferentné spojenia n. hypothalamic paraventricularis (PVN). Ascendentné projekcie prichádzajú predovšetkým z aminergických a peptidergických oblastí mozgového kmeňa, ako sú n. tractus solitarius, ventrolaterálna oblasť predĺženej miechy a locus coeruleus. Intrahypotalamické kontakty majú pôvod vo väčšine hypothalamickej jadier. Descendentné projekcie prichádzajú hlavne z limbických oblastí, ako sú subiculum, hippocampus, corpus amygdaloideus a septum pellucidum, ktoré tvoria monosynaptické, alebo bisynaptické a polysynaptické spojenia s PVN prostredníctvom štruktúr lokalizovaných v n. interstitialis striae terminalis a area preoptica. Informácie z cirkulácie sa dostávajú na PVN neuróny prostredníctvom bezbariérových cirkumventrikulárnych orgánov, ako sú organon subfornicale (SFO) a organum vasculosum laminae terminalis (OVLT). (F — fornix, KHMT — korticohypotalamický mediálny trakt, AF — amygdalofungálna dráha, rostrálna (MFBr) a kaudálna (MFBc) časť MFB dráhy).

kovaný somatický stres (11), depresia (84) a starnutie (69, 83) stimulujú produkciu AVP v CRH neuróne. AVP je navyše jeden z mála hormónov, u ktorého sa experimentálne dokázala účasť v adaptačných procesoch HHA osi v dlhodobých stresových podnetoch.

Dnes je už dokázané, že okrem CRH a AVP existuje viacero ďalších látok, ako napr. oxytocín (47), angiotenzín (4), katecholamíny (6), neuropeptid Y, neurotensín (91), somatostatín (42), cholecystokinín, vazopresín, vazopresín, vazopresín, vazopresín, vazopresín (12), melanín koncentrujúci hormón (46) a iné, ktoré väčšinou nepriamo, t.j. protredníctvom aktivácie CRH neurónov môžu ovplyvňovať sekréciu ACTH a kortikosterónu. Žiadna z nich však nie je schopná priamo stimulovať biosyntézu ACTH. Navyše samotný CRH neurón z hľadiska koexistencie neuropeptidov je vý-

razným predstaviteľom heterogénneho neurónu. Napríklad u inaktívnych potkanov asi 50 % CRH neurónov syntetizuje aj AVP (113), 30 % neurotensín, 20 % enkefalín, v menších frakciách galanín, cholecystokinín a vazopresín, vazopresín, vazopresín, vazopresín (18). Početná kolokalizácia CRH s AVP sa demonštrovala aj v *nucleus hypothalamicus paraventricularis* ľudského mozgu (70). Funkčný význam kolokalizujúcich neuropeptidov v CRH neuróne okrem vazopresínu však nie je v súčasnosti presne známy.

#### Stres integrujúci CRH neurón (siCRH)

CRH sa syntetizuje vo viac ako 4000 tzv. parvocelulárnych neurónoch lokalizovaných v dorzo-mediálnej podoblasti paraven-

trikulárneho jadra hypotalamu (nucleus hypothalamicus paraventricularis — PVN), ktorý predstavuje rozhodujúcu štruktúru mozgu pre centrálnu reguláciu HHA osi (103). CRH účinkuje na úrovni hypofýzy, kde reguluje syntézu a sekréciu ACTH prostredníctvom vysokoafinitných membránových CRH receptorov. Regulácia CRH neurónov v PVN patrí v súčasnosti k najdiskutovanejším otázkam regulácie HHA osi. Výsledky z experimentov totiž potvrdzujú, že aj CRH produkujúce neuróny lokalizované mimo PVN sa môžu priamo alebo nepriamo podieľať na modifikácii finálnej stresovej odpovede organizmu, a preto CRH neurón HHA osi lokalizovaný v PVN, najčastejšie označovaný ako hypofýzotropný neurón, sa v globálnom kontexte chápe ako finálny, tzv. „stres-integrujúci CRH neurón PVN“ (siCRH neurón) (40, 41).

PVN má bohaté prepojenia s mnohými mozgovými oblasťami (obr. 3) (97). K siCRH neurónu prichádzajú priame a nepriame projekcie z intrahypotalamických aj extrahypotalamických oblastí mozgu a činnosť siCRH neurónu ovplyvňuje aj viacero lokálnych intra-PVN spojov (61), ako aj signály z periférnej cirkulácie sprostredkované cirkumventrikulárnymi orgánmi (65).

Limbické štruktúry, ako sú subiculum, hippocampus, corpus amygdaloideus a septum pellucidum prinášajú informácie k PVN prostredníctvom monosynaptických dráh, alebo častejšie prostredníctvom bisynaptických až multisynaptických komplexov prepojených s niekoľkými interneurónmi lokalizovanými hlavne v nucleus interstitialis striae terminalis alebo v aglomeráciách preoptických a hypotalamických neurónov (9). Hlavná eferentná projekcia hipokampu je fimbria hippocampi-fornix (zastupuje výbežky všetkých bunkových skupín), subikulum a CA1 oblasť hipokampu projikujú prostredníctvom fornix, ako aj mediálneho kortikohypotalamického traktu. Ventrálny subikulum projikuje k NIST cez fimbria hippocampi-fornix alebo stria terminalis amygdaly.

Väčšina štruktúr mozgového kmeňa (nuclei raphe, locus coeruleus, nucleus parabrachialis, nucleus tractus solitarii, formatio reticularis) komunikuje s PVN hlavne prostredníctvom adrenergických projekcií, ktoré sú vysielané k PVN prostredníctvom tzv. fasciculus medialis prosencephali, známejšieho pod termínom „medial forebrain bundle“ (MFB) a prostredníctvom ascendentného mediálneho periventrikulárneho systému (31).

Adrenergické projekcie z ventrolaterálnej časti predĺženej miechy (nucleus reticularis lateralis, oblasti A1, C1) (86) dorzomedialnej časti predĺženej miechy (nucleus tractus solitarii NTS, oblasti A2, C2) (81) a locus coeruleus (oblasť A6) predstavujú tri najvýznamnejšie zväzky ascendentných katecholaminergických projekcií zabezpečujúcich prenos signálov z parasimpatikových centier mozgového kmeňa a sympatikových pregangliových neurónov torakálnej miechy na siCRH neurón (74, 92). Signály z mozgového kmeňa a predĺženej miechy sa premietajú na siCRH neurón prostredníctvom dvoch projekcií: 1. cez axónové kolaterály senzorických dráh, 2. cez aktiváciu katecholaminergického systému mozgového kmeňa (96).

Interneurónový kontakt, a teda prenos informácií na siCRH neurón sa realizuje za účasti rôznych typov neurotransmiterov a ich receptorov. V závislosti od charakteru podnetu sú signály spracúvané špecifickými centrálnymi stresovými okruhmi (41). Napr. komponenty ascendentného noradrenergického systému majú monosynaptický charakter a účinkujú na siCRH neuróny excitáčne cez alfaadrenergické receptory (53). Aktivujú sa počas krvácania, hypotenzie a respiračného distresu, prípadne niektorých imu-

nologických stavov, ale napríklad nie počas stresu spôsobeného elektrickým šokom, ktorý aktivuje iné mozgové dráhy. Perikaryá noradrenergického systému sú lokalizované v nucleus tractus solitarii (oblasť A2) (30) a ventrolaterálnej oblasti predĺženej miechy (oblasť A1) a locus coeruleus (A6), kým adrenergické bunky sú prítomné len v štruktúrach predĺženej miechy (oblasti C1, C2, C3). Ascendentné projekcie týchto neurónov vstupujú prechodom cez oblasti nuclei pontis a area tegmentalis ventralis do MFB a postupujú až do predného mozgu. Časť z nich na úrovni oblasti area retrochiasmatica sa stáča k PVN (76). NPY a ACTH obsahujúce nervové zakončenia pochádzajú hlavne z nucleus hypothalamicus arcuatus a čiastočne predĺženej miechy. Sérotonínergické kontakty zabezpečuje hlavne nucleus raphe dorsalis, nucleus raphe medialis a lemniscus medialis. Bohatý plexus GABAergických zakončení identifikovaný okolo siCRH neurónu pochádza predovšetkým z NIST. Oxytocínové a vazopresínové kontakty so siCRH neurónom môžu mať okrem extrahypotalamických zdrojov aj lokálny pôvod. Hoci excitáčne aminokyseliny stimulujú HHA os (45, 48, 49), zdroj glutamátových projekcií zásobujúcich siCRH neurón zatiaľ nie je známy. Účasť acetylcholinových zakončení je značne obmedzená. Všetky tieto zdroje majú priamy synaptický kontakt so siCRH neurónom (35).

#### Lokálny CRH ako potenciálny neurotransmitter siCRH neurónu

Ako sme už uviedli, úlohu neurotransmitera vo funkcii regulátora siCRH neurónu môže spĺňať aj samotný CRH neuropeptid. Existenciu priamych kontaktov medzi CRH neurónmi a CRH zakončeniami na úrovni PVN demonštrovali prvýkrát morfológické nálezy s predpokladom, že ide o lokálne CRH-CRH interakcie (obr. 4) (61). Neskôr sa ukázalo, že malá dávka CRH injikovaná do III. komory potencuje stresom stimulovanú sekréciu ACTH z hypofýzy (73), a Parkes demonštroval pozitívnu koreláciu medzi CRH mRNA a c-fos a NGFI-B mRNA (nešpecifické indikátory bunkovej aktivity) v siCRH neuróne po intracerebroventrikulárnom podaní CRH (77). Množstvo in vitro údajov existuje aj o tom, že CRH pôsobí stimulačne na svoje receptory (55, 94).

Na základe súčasných poznatkov je zrejme, že CRH môže v PVN aktivovať najmenej dva typy CRH receptorov, CRH-R1 a CRH-R2 (62), ktoré preukazujú približne 70 % štruktúrovú homológiu (25). V PVN je expresia CRH-R2 receptorov relatívne vysoká počas kľudu, zatiaľ čo expresia CRH-R1 je v kľudovom štádiu takmer nedetegovateľná. Najvyššie koncentrácie CRH-R2 receptorov sa však nachádzajú mimo PVN v nucleus septalis lateralis, nucleus hypothalamicus ventromedialis a plexus chorioideus (19). CRH-R1 receptory sa považujú za primárne neuroendokrinné receptory HHA osi, kým CRH-R2 receptorom sa okrem možnej účasti na aktivácii HHA osi navyše pripisuje aj účasť v autonómnych a behaviorálnych akciách mozgu. Rôzne stresové podnety (90) zvyšujú expresiu CRH-R1 receptorovej mRNA v PVN, kým CRH-R2 receptorová mRNA sa nemení vplyvom stresu, čo vytvára dojem, že CRH-R2 receptory majú úlohu v autoregulácii sekrécie CRH z siCRH neurónu.

#### Nelokálny CRH ako potenciálny neurotransmitter siCRH neurónu

Možnosť existencie ultrakrátkej spätnej väzby v PVN medzi lokálnymi siCRH neurónmi, teda neurónmi rovnakého funkčného významu, ale aj medzi siCRH neurónmi a inými CRH lokálnymi

## CRH AKO INTRA-PVN REGULÁTOR siCRH NEURÓNU

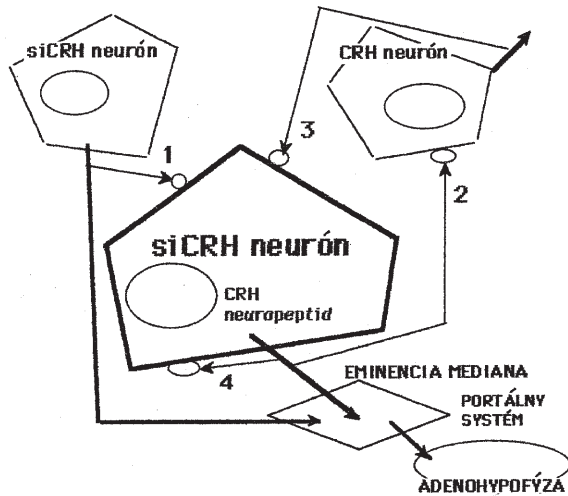


Fig. 4. Scheme of siCRH neuron regulation with use of local CRH sources. Four situations may theoretically develop: 1. siCRH neuron innervates neighbour siCRH neuron through axonal collaterals, 2. siCRH neuron innervates functionally different CRH neuron in PVN (neuron, which is not projecting in eminentia mediana direction), 3. siCRH neuron itself is functionally innervated by other CRH neuron, 4. siCRH neuron is regulated by own CRH (autoregulation) through axonal collaterals creating axo-somatic or axo-dendritic synaptic contacts.

Obr. 4. Schematický obraz znázorňujúci reguláciu siCRH neurónu prostredníctvom lokálnych (intra-PVN) CRH zdrojov. Teoreticky sa môžu vyskytovať štyri situácie: 1. siCRH neurón inervuje susedný siCRH neurón prostredníctvom axónových kolaterál; 2. siCRH neurón inervuje funkčne odlišný CRH neurón v PVN (neurón, ktorý neprojkuje smerom k eminentia mediana); 3. siCRH neurón sám je inervovaný funkčne iným CRH neurónom; 4. siCRH neurón je regulovaný vlastným CRH (autoregulácia) prostredníctvom axónových kolaterál tvoriacich axo-somatické alebo axo-dendritické synaptické kontakty.

neurónmi (obr. 4), teda neurónmi rôzneho funkčného významu (61) však nemusí byť jediným zdrojom CRH-CRH interakcií v PVN (68). Je nesporné, že CRH sa nielen produkuje v mnohých extra-PVN štruktúrach, ako sú napr. bulbus olfactorius, cortex cerebrum, n. interstitialis striae terminalis, n. amygdaloideus centralis, substantia innominata, n. praeopticus medialis, area hypothalamica lateralis, n. perifornicalis, n. hypothalamicus dorsomedialis, n. originis nervi oculomotorii, n. praemamillaris dorsalis, corpus geniculatum mediale, n. tegmenti dorsolateralis, n. parabrachialis, nucleus tractus solitarii, n. originis dorsalis vagi, n. vestibularis medialis, n. praepositus hypoglossi a Barringtonovo jadro, ale mnohé z týchto oblastí, ako sú napr. area hypothalamica lateralis, n. hypothalamicus dorsomedialis, n. interstitialis striae terminalis, n. amygdaloideus medialis a Barringtonovo jadro majú priamy kontakt s PVN (obr. 5) a ich účasť v sprostredkovaní niektorých aspektov stresovej odpovede bola jasne experimentálne preukázaná (109).

Významnejšie priame CRH projekcie behaviorálneho a autonómneho charakteru prichádzajú z area hypothalamica lateralis, ktorá zahŕňa nucleus perifornicalis (PeF) a n. hypothalamicus dorsomedialis a v menšom rozsahu oblasti NIST a Barringtonovo jadro.

## CRH AKO EXTRA-PVN REGULÁTOR siCRH NEURÓNU

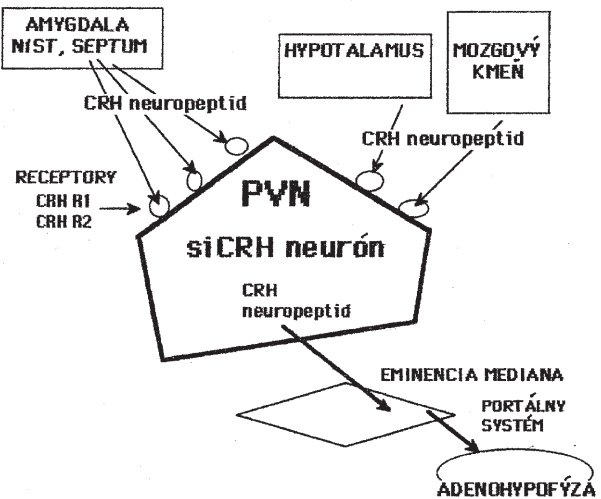


Fig. 5. Scheme of siCRH neuron regulation in PVN from different extra PVN structures via CRH neuropeptide acting as a neurotransmitter. Signals of extra-PVN structures as a reaction to stress factors can be transferred on siCRH neuron via different anatomic paths through proper CRH R1 and CRH R2 receptors. The final effects depend on the character of the stressor, which can activate one or more extrahypothalamic areas simultaneously.

Obr. 5. Schéma znázorňujúca reguláciu siCRH neurónu v PVN z rôznych extra-PVN štruktúr prostredníctvom CRH neuropeptidu ako neurotransmitera. Signály z extra-PVN štruktúr pri reakcii na stresor sa môžu prenášať na siCRH neurón odlišnými anatomickými dráhami cez vlastné CRH R1 a CRH R2 receptory. Konečný efekt však závisí od charakteru stresora, ktorý môže aktivovať jednu alebo viac extrahypotalamických oblastí simultánne.

## Faktory ovplyvňujúce aktivitu HHA osi

Aktivitu HHA osi môže ovplyvňovať viacero faktorov, ktoré môžu mať externý alebo interný pôvod a môžu pôsobiť stimulačne alebo inhibične. Presné vymenovanie týchto faktorov však nie je možné, pretože konečný účinok je často výsledkom vzájomnej súčinnosti viacerých z nich. V tejto práci chcem uviesť najviac skúmané faktory.

## Ultradiánny rytmus

Je nesporné, že aktivita HHA osi má ultradiánny rytmus (21). Zo štúdií robených na ľuďoch (14), ako aj na zvieratách (17) jasne vyplýva, že pulzáčná ultradiánna sekrécia CRH a AVP má podiel na tvorbe diurnálneho rytmu ACTH a kortizolu/kortikosterónu a ich zvýšenej koncentrácie počas akútneho stresu. CRH aj AVP sú secerované epizodicky v relatívne konštantnej a navyše podobnej frekvencii, 1–3 sekrečné epizódy počas 1 hodiny, s časovým prekrytím 80 %. Len 45–80 % sekrečných pulzov ACTH však striktné koreluje s pulzami CRH a AVP, čo však nepopiera existenciu pozitívnej korelácie medzi hladinami CRH a AVP v hypofýzo-portálnej cirkulácii a koncentraciami ACTH a “B” v plazme (21).

Tvorba bazálnej ultradiánnej aktivity HHA osi závisí od relatívne konštantnej oscilácie CRH a AVP neurónov a prítomnosti

## SPÄTNOVÄZOBNÁ INHIBÍCIA GLUKOKORTIKOIDMI

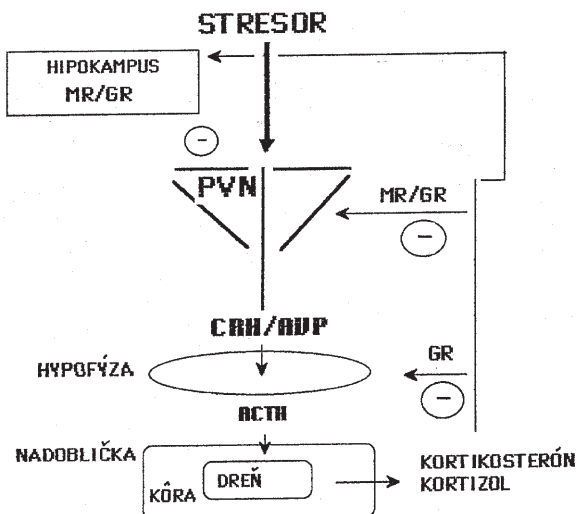


Fig. 6. Scheme of feedback HHA axis inhibition with plasmatic glucocorticoids. Stressor induces a cascade of reactions, beginning with increased secretion of CRH/AVP neuropeptides from siCRH neurons of PVN into portal vessels, followed by ACTH secretion from adenohypophysis into blood circulation stimulated by these neuropeptides and finally ACTH stimulates cortisol/corticosterone secretion from adrenal cortex into peripheral circulation. Increased levels of glucocorticoids by influencing the function of their own receptors (glucocorticoid and mineralocorticoid) on the level of adenohypophysis, PVN and higher cerebral centers inhibit the increased activity of HHA axis and return it to initial functional state.

Obr. 6. Schematický náčrt spätnoväzbovej inhibície HHA osi plazmatickými glukokortikoidmi. Stresor vyvoláva kaskádu reakcií, pri ktorej dochádza najskôr k zvýšenej sekrécii CRH/AVP neuropeptidov z siCRH neurónov PVN do portálnych ciev, ktoré potom stimulujú sekréciu ACTH z adenohypofýzy do krvného obehu a ACTH nakoniec stimuluje sekréciu kortizolu/kortikosterónu z kôry nadobličiek do periférnej cirkulácie. Zvýšené hladiny glukokortikoidov ovplyvňujú činnosť vlastných receptorov (glukokortikoidových a mineralokortikoidových) na úrovni adenohypofýzy, PVN a vyšších mozgových centier inhibujú zvýšenú aktivitu HHA osi a vracajú ju do pôvodného funkčného stavu.

niekoľkých konštitutívnych imputov, ktoré sa prejavujú vo forme zmenenej amplitúdy (20). Patria sem: pozitívne cirkadiánne imputy z jedného alebo viacerých „peacemakerov“ (nucleus hypothalamicus suprachiasmaticus, nucleus hypothalamicus ventromedialis), pozitívny tonický noradrenergický imput z locus coeruleus a pozitívny dopamínogický imput z mezokortiko-limbického systému, negatívny tonický imput z hipokampu a prefrontálneho kortexu a negatívny POMC-peptidogický spätoväzbový imput z nucleus hypothalamicus arcuatus a imput výsledného produktu HHA osi kortikosterónu alebo kortizolu. Synchronizácia a počet amplitúd, nie však frekvencií pulzov narastá počas cirkadiálneho rytmu a stresu (21).

Stresom vyvolaná aktivita HHA osi závisí od relatívne stálej ultradiánnej oscilácie CRH a AVP a od sily impulzov prichádzajúcich zo stresom aktivovaných štruktúr, ktorých účinok sa pre-mieta v podobe zvýšenej amplitúdy (20).

## Cirkadiánný rytmus

Všetky zložky HHA osi preukazujú za normálnych fyziologických podmienok výchylky, ktoré sa pravidelne opakujú v 24-hodinovom (dennom, diurnálnom, cirkadiánnom) cykle. Aktivita HHA osi sa zvyšuje počas cirkadiálneho vrcholu, pričom najvýraznejšie zmeny preukazujú plazmatické glukokortikoidy, ktoré sú 10–20-krát vyššie oproti inaktívnej perióde. U človeka dosahuje kortizol najvyššie hladiny v skorých ranných hodinách, kým kortikosterón u potkana kulminuje v neskorých večerných hodinách. Zmeny v ACTH sú menej výrazné (ide približne o 50 % rozdiely) a predchádzajú výstupu glukokortikoidov v plazme s náznakmi počiatočného stúpania v skorých poľudňajších hodinách. Sekrécia ACTH počas vrcholu diurnálneho rytmu úplne závisí od uvoľnenia hypothalamického CRH (110). Výsledky experimentov poukazujú na jasnú paralelu medzi diurnálnymi zmenami ACTH a glukokortikoidov.

Diurnálny rytmus je pravdepodobne sprostredkovaný stimuláciou siCRH neurónu v PVN, o čom svedčia aj periodické zmeny expresie CRH mRNA v PVN a sekrécie CRH (59). Na rozdiel od glukokortikoidov však expresia CRH mRNA vzrastá u potkanov počas dňa a vrcholí tesne pred začiatkom nočnej fázy. V prvých dvoch hodinách nočnej fázy, keď hladiny glukokortikoidov práve dosahujú svoje maximálne hladiny, dochádza k náhlemu — asi 30 % poklesu expresie CRH mRNA. Toto je jediný úsek dňa, keď sú zmeny CRH mRNA sprevádzané zmenami plazmatických glukokortikoidov. Rytmičné uvoľnenie CRH sa odráža v zvýšenej transkripcii POMC a sekrécii ACTH z adenohypofýzy (58, 60). Zdá sa, že sekrécia ACTH z adrenokortikotropných buniek závisí od centrálnej regulácie len v čase cirkadiálneho maxima a v čase minimálnej sekrécie ACTH je konštitutívna (23).

Hlavný podiel na riadení cirkadiálneho rytmu majú neuróny nucleus hypothalamicus suprachiasmaticus. Lézia tejto štruktúry zvyšuje bazálnu sekréciu ACTH a kortikosterónu (13). Usudzuje sa, že počas svetelnej fázy dňa je siCRH neurón inhibovaný GABAergickými a vazopresínogickými neurónmi lokalizovanými v dorzomediálnom hypothalame (51). Presný molekulárny a biochemický mechanizmus cirkadiálnej oscilácie však nie je známy. Diurnálny rytmus CRH bol opísaný aj v mozgovomiechovej tekutine, ktorý má opačný rytmus v porovnaní s plazmatickým kortikosterónom (71), a preto je veľmi pravdepodobné, že odráža aktivitu CRH neurónov lokalizovaných mimo PVN.

## Spätoväzbová inhibícia glukokortikoidmi

Dlhodobé zvýšenie hladín cirkulujúcich glukokortikoidov, t.j. konečného produktu aktivovanej HHA osi, má pre jeho rozsiahle katabolické účinky negatívny vplyv na organizmus. Preto sa vyvinulo viacero mechanizmov, ktorých úlohou je potlačenie stresom indukovanej aktivity siCRH neurónu. Spätoväzbová inhibícia HHA osi vlastnými glukokortikoidmi je integrovanou súčasťou stresovej odpovede a zároveň je jedným z najúčinnějších mechanizmov regulujúcich aktivitu siCRH neurónu.

Zvýšené hladiny cirkulujúcich glukokortikoidov účinkujú na siCRH neurón v PVN inhibujúc expresiu CRH mRNA, ako aj sekréciu CRH (104). Ide o zložitý proces, ktorý prebieha na viacerých stupňoch počnúc od hypofýzy, cez PVN až po najvyššie centrá mozgu (obr. 6). Adrenalektómia je jedným z najbežnejších

zásahov, ktorý umožňuje podrobne študovať centrálny význam deficitu glukokortikoidov v periférnej cirkulácii. Štúdie na adrenaektomovaných zvieratách dokonca naznačili, že spätnoväzbová inhibícia môže mať nielen výlučne inhibičný, ale aj modulačný, t.j. homeostatický účinok na siCRH neurón, pri ktorom neblokuje účinok stimulačného ligandu, ale ho len časovo obmedzuje.

Spätnoväzbová inhibícia glukokortikoidmi prebieha viacerými mechanizmami a prejavuje sa ako časovo rýchla, oneskorená a pomalá (52). Na úrovni hypofýzy inhibícia stimulovanej sekrecie ACTH môže prebehnúť v priebehu niekoľkých sekúnd až minút v závislosti od dĺžky pretrvávania zvýšených hladín glukokortikoidov. Takáto inhibícia neúčinkuje na úrovni génového aparátu, ale má výrazný podiel na výške secerovaného ACTH. Oneskorená a pomalá inhibícia pracuje v minútových až hodinových intervaloch po aktivácii sekrecie glukokortikoidov. Tento účinok je sprostredkovaný glukokortikoidovými a mineralokortikoidovými receptormi, zahŕňa úroveň génov a má dôležitú úlohu pri stabilizácii homeostázy. Tento typ spätnoväzbovej inhibície má inhibičný účinok na transkripciu a transláciu CRH, AVP (44) a POMC, ako aj sekreciu CRH z siCRH neurónu a ACTH z hypofýzy.

Hoci expresia CRH, AVP a POMC génov je inhibovateľná exogénnymi glukokortikoidmi, expresia CRH mRNA a AVP mRNA nie je zablokovaná zvýšenými hladinami endogénnych glukokortikoidov počas stresu. Význam takejto reakcie organizmu, keď stresom aktivované glukokortikoidy nemôžu uplatniť svoj inhibičný efekt na siCRH neurón, pretože sú prekonané inými stimulačnými mechanizmami, vďaka ktorým dochádza aj k aktivácii CRH receptorov (52), sa môže zabezpečiť nezmenená alebo dokonca zvýšená odpovedateľnosť siCRH neurónu na následný stresový podnet. Uvažuje sa, že práve v takejto situácii by siCRH neurón mohol byť schopný prijímať signály aj prostredníctvom CRH neurotransmiterov z aktivovaných extrahypotalamických populácií CRH neurónov. Inhibičný proces glukokortikoidov sa iniciuje prostredníctvom interakcie medzi nadobličkovými steroidmi a ich intracelulárnymi receptormi. Existujú 2 typy receptorov, mineralokortikoidový a glukokortikoidový, ktoré prejavujú voči cirkulujúcemu kortikosterónu rozličnú afinitu a odpovedajú rozlične aj na hladiny cirkulujúceho hormónu. Mineralokortikoidové receptory (MR) majú vysokú afinitu a malú kapacitu, a preto reagujú len na nízke hladiny plazmatických kortikoidov. Slúžia na udržanie bazálnej aktivity HHA osi. Glukokortikoidové receptory (GR) majú nižšiu afinitu ku glukokortikoidom, a preto odpovedajú na vyššie hladiny cirkulujúcich kortikoidov, ako napr. počas akútneho stresu alebo vrcholu diurnálneho rytmu. Novšie výsledky však naznačujú, že aktivácia MR počas akútneho stresu alebo vrcholu diurnálneho rytmu potencuje činnosť GR pri regulácii aktivity HHA osi prostredníctvom kortikosterónu (101).

Distribúcia MR a GR v mozgu nie je rovnaká. MR sú do značnej miery koncentrované v limbickom systéme, kým distribúcia GR má v mozgu výrazný ubikvistický charakter. Inhibícia expresie CRH mRNA a sekrecie ACTH glukokortikoidmi implantovanými do blízkosti PVN poukazuje na výrazný účinok spätnoväzbovej glukokortikoidovej inhibície na úrovni PVN (28). Imunochemické štúdie poukázali na prítomnosť glukokortikoidových receptorov priamo v jadrách siCRH neurónov (107).

Hippocampus je pravdepodobne najvýznamnejším a hierarchicky zatiaľ najvyšším stupňom spätnoväzbovej glukokortikoidovej inhibície HHA osi. Táto limbická oblasť mozgu má najvy-

ššiu hustotu MR a GR (39). Poškodenie hipokampu (38) alebo transekcia jeho eferentných projekcií (fornixu) potencuje stresom indukovanú sekreciu kortikosterónu u potkana a primátov a zvyšuje expresiu CRH mRNA a AVP mRNA v parvocelulárnych neurónoch PVN. Pri stimulácii hipokampu bez ohľadu na jeho funkčné a anatomicke stratifikovanie dochádza k zníženej aktivite HHA osi u človeka i u potkana. Napriek tomu, že v hipokampe je za bazálnych podmienok okupovaných až 50—90 % MR a len 10—15 % GR, ktorých okupovanosť promptne narastá vplyvom stresu až na 75 %, sa na spätnoväzbovej inhibícii HHA osi zúčastňujú oba typy receptorov (95). Okrem hipokampu najhojnejší výskyt oboch typov receptorov sa zaznamenal v komplexoch štruktúr, ako sú frontálny cortex-gyrus cingulatus a septum-hippocampus, ktorých účasť na inhibícii siCRH neurónu sa tiež predpokladá.

### Rôzne stresory

Stimulácia siCRH neurónu akútnymi stresovými podnetmi, či už externého alebo interného pôvodu, indukuje kaskádu reakcií zahrňujúcich stimuláciu expresie primárneho transkriptu CRH génu a hladín jeho mRNA, syntézu CRH peptidu a jeho sekreciu do portálneho hypofýzového riečiska, expresiu primárneho transkriptu POMC génu a jeho mRNA v adenohipofýze, tvorbu ACTH a jeho sekreciu do periférnej cirkulácie, syntézu glukokortikoidov v nadobličkách a ich vyplavenie do periférnej cirkulácie. V závislosti od charakteru podnetu môže dôjsť aj k stimulácii produkcie a sekrecie vazopresínu, alebo iného regulačného neuropeptidu v siCRH neuróne.

Akútny stres je charakteristický rýchlym výstupom plazmatických hladín ACTH, vrchol môže byť pozorovateľný už po 3 minútach, kým hladiny kortikosterónu dosahujú maximálne plazmatické koncentrácie 15—30 min po naštartovaní stresovej reakcie. Veľkosť odpovede, ako aj jej kinetika však závisia od povahy stresora, jeho trvania a intenzity a od toho, ktoré centrálné neurálne okruhy sú aktivované (41).

Na rozdiel od akútneho stresu môže intermitentný (prerušovaný) alebo chronický stres viesť k procesom desenzitizácie, adaptácie a habituácie, keď nedochádza k odpovedi HHA osi, alebo dochádza k nej, ale len v zníženej forme. Na základe reakcie ACTH na dlhodobý podnet spojený s následným vystavením novému nepredvídanému stresoru sa rozlišujú 3 typy odpovedí ACTH: 1. desenzitizácia na pretrvávajúci a hypersenzitivita na následný nový podnet (napr. imobilizácia, chlad); 2. nezmenená senzitivita na opakovaný a hypersenzitivita na nový podnet (i.p. podávanie hypertonickeho NaCl, inzulinová hypoglykémia); 3. dočasné mierne zvýšenie na pretrvávajúci a hyporeakcia na nový podnet (dehydratácia, príjem soľného roztoku per os) (3). Expresia CRH mRNA v chronických stresoch často závisí od charakteru stresu, ale podnety s výraznou nocicepčnou zložkou podobne ako séria nepredvídaných podnetov sú často spojené so stálou aktiváciou a zvýšenými hladinami CRH mRNA v PVN.

Chronický stres (somatický a psychologický) okrem niektorých výnimiek, ako je napr. aj zápalový (inflamačný) stres (5), obyčajne zvyšuje expresiu CRH mRNA v siCRH neuróne (105). Zvýšený počet aktivovaných siCRH neurónov v PVN nie je spojený so zvýšenou akumuláciou CRH peptidu v zakončeníach siCRH neurónu v oblasti EM. Hoci chronický stres stimuluje expresiu AVP mRNA v PVN, ako aj jeho sekreciu do portálneho riečiska, na rozdiel od

CRH, AVP je menej citlivý na spätnoväzbovú inhibíciu glukokortikoidmi, a preto jeho zvýšená dostupnosť pre ACTH bunky prednej hypofýzy môže tvoriť významný mechanizmus zabezpečujúci normálnu odpovedateľnosť organizmu na nový stres aj pri zvýšených hladinách periférnych kortikosteroidov.

Chronické osmotické podnety, ako smäd, príjem 2 % NaCl alebo dehydratácia, sú skôr výraznými podnetmi pre stimuláciu hypotalamo-neurohypofýzového ako hypotalamo-adenohypofýzového systému. Experimentálne práce však ukázali, že osmotické podnety majú paradoxne inhibičný vplyv na aktivitu HHA osi a znižujú hladinu CRH mRNA v parvocelulárnej oblasti PVN, ktorá ďalej už neodpovedá, alebo odpovedá len nevýrazne na nový podnet (2, 117).

Výnimkou vo vzťahu medzi reaktivitou hypofýzy a expresiou CRH je model imunitnej artritídy, pri ktorej hypersenzitívnosť HHA osi je spojená so znížením CRH mRNA v PVN a CRH peptidu v hypofýzovej portálnej krvi.

Väčšina opakovaných stresových podnetov vyvolávajúcich hypersenzitívnosť HHA osi, ako imobilizácia a elektrošok, spôsobuje zvýšenú expresiu AVP mRNA v siCRH neurónoch PVN (24).

Na základe existencie markantného rozdielu v citlivosti limbických štruktúr na rôzne stresory predpokladajú niektorí autori existenciu dvoch typov generalizovaných stresových dráh, tzv. limbicko-senzitívnych a limbicko-nesenzitívnych (41). Limbicko-senzitívne stresory sú „procesívne“, teda také, ktoré vyžadujú postupné spracúvanie stimulov, aby sa získala konečná fyziologická hodnota podnetu. Kôra mozgu je hlavným zberateľom multimodálnych stimulov, ktorá ich potom vyhodnocuje a triedi do príslušných limbických štruktúr.

Limbicko-nesenzitívne stresory sú napr. respiračné, kardiovaskulárne, imunitné a systémové stresory, ktoré svojím účinkom predstavujú vážny zásah do organizmu, alebo spôsobujú bezprostredné ohrozenie existencie jedinca. Tieto stresory nevyžadujú bezprostrednú interpretáciu daného stresového podnetu limbickými štruktúrami a aktivujú siCRH neurón v PVN priamou cestou.

### Udalosti z obdobia mladosti

V postnatálnom období je aktivita HHA osi u hlodavcov značne znížená a prvých 14 dní jej odpovedateľnosť na stres výrazne potlačená. Preto sa táto perióda života označuje ako tzv. perióda zníženej odpovedateľnosti na stres (stress-hyporesponsive-period) (79). Niektoré zásahy ako napríklad maternálna deprivácia môže dehinhibovať túto periódu a HHA os môže zreteľne odpovedať na niektoré mierne stresory (82).

Regulácia sekrécie ACTH hypotalamickými neuropeptidmi a glukokortikoidmi nie je v jednotlivých vývojových periódach perinatálneho a postnatálneho, t.j. neonatálneho a infantilného obdobia presne známa, ale je mnoho informácií o tom, že rôzne zásahy do organizmu počas vývojového obdobia, vrátane napr. zmeny vo výžive (63), sa premietajú v dospelosti zmenenou bazálnou aktivitou HHA osi, ako aj jej zmenenou citlivosťou na stresové podnety (37).

Napriek tomu, že úroveň funkčnej celistvosti HHA osi (t.j. chýbajúcimi odpoveďami hypofýzy a nadobličky, ale nie mozgu na stres) v ranom postnatálnom vývoji nie je podrobne známa, vývoj odpovede HHA osi na stres je modulovaný udalosťami a skúsenosťami z mladosti, a preto zvieratá, ktoré boli v mladosti vy-

stavené napr. ručným manipuláciám (handling), majú často zníženú odpoveď HHA osi na stres a naopak fyzikálna trauma alebo podanie endotoxínov v mladosti môže zvyšovať odpoveď HHA osi na stres v dospelosti. Navyše tieto vplyvy môžu pretrvávajúť počas celého života zvierata a môžu byť sprevádzané zmenami, častejšie zvýšenými hypotalamickými hladinami mRNA pre CRH a často aj pre AVP (99).

Zistilo sa, že environmentálne manipulácie v ranom období môžu regulovať expresiu génov pre glukokortikoidové receptory v hipokampe a frontálnom kortexe, t.j. v oblastiach, ktoré sú dobre známe ako miesta negatívnej spätnej väzby pre reguláciu syntézy CRH a AVP (87). Výsledkom tohto procesu je zmenená senzitivita syntézy CRH a AVP k inhibícii glukokortikoidmi v PVN. Zmeny v hladinách CRH a AVP zase určujú odpovedateľnosť HHA osi na stresory; napr. zvýšená produkcia CRH predpovedá zvýšenú reakciu HHA osi na stresor. Takto vlastne vplyvy zo skorého raného obdobia môžu prispieť veľmi výrazne k vývinu stabilných rozdielov medzi jednotlivcami v odpovedateľnosti na stresory v dospelosti. Tieto výsledky považujú niektorí autori za dobrý príklad na to, ako prebieha proces programovania nervového systému ranými skúsenosťami, teda jeden zo vzorov, ako vlastne takéto programovanie v mozgu môže vzniknúť u hociktorého jedinca (67).

Sú nálezy, ktoré naznačujú, že prvých 10 dňoch života hypotalamické CRH a AVP neuróny nie sú citlivé na spätnoväzbovú inhibíciu glukokortikoidmi a bazálna sekrécia ACTH sa zdá relatívne nezávislá od hypotalamického podnetu. Tak napr. napriek prítomnosti mRNA pre glukokortikoidové receptory v PVN u neonatálnych potkanov ich zablokovanie glukokortikoidovým antagonistom RU-38486 nevedlo k stimulácii CRH mRNA prvý postnatálny týždeň, ale až 9. postnatálny deň (116). Navyše takáto blokáda neovplyvnila odpovedateľnosť CRH mRNA na chronický stres u neonatálnych potkanov. Po druhom týždni života, keď dochádza k maturácii glukokortikoidových receptorov a spojov medzi PVN a inými mozgovými štruktúrami, hlavne NIST a centrálnou amygdalou, sa efekt kortikosterónu na hypotalamické neuróny môže úplne realizovať. Napriek tomu, že CRH mRNA neodpovedá na chladový podnet zvýšenou expresiou 6., ale až 9. postnatálny deň, výstup kortikosterónu v plazme bol už aj 6. deň zablokovaný CRH antisérom, čo naznačuje, že kompenzačný mechanizmus zodpovedný za stimuláciu CRH mRNA pred 9. postnatálnym dňom je ešte len minimálne funkčný, napriek tomu že CRH už má svoj periférny efekt stabilizovaný (10).

Samozrejme, že cieľom mnohých experimentov je aj štúdium novej ochrany pred negatívnymi vplyvmi majúcejimi pôvod v ranom štádiu života, ktoré môžu u človeka viesť až k psychickým poruchám. Celkom pozitívne výsledky sa dosiahli v kombinácii stresu s GABAergickými agonistami, a preto sa usudzuje, že steroidové deriváty s GABAagonistickými vlastnosťami by mohli predstavovať jeden z možných prostriedkov, ako čiastočne predchádzať vývoju psychických ochorení, za pôvod ktorých by mali zodpovedať negatívne skúsenosti z mladosti (79).

### Laktácia

Laktácia je jednou z mála fyziologických situácií, počas ktorej dochádza u experimentálnych zvierat k zníženej odpovedi HHA osi na stresové podnety. Počas laktácie dochádza k modifikáciám



v regulácii HHA osi, sekrecia kortikosterónu je tonicky zvýšená a odpoveď ACTH na stres výrazne potlačená. Hoci hladiny CRH mRNA v siCRH neurónoch PVN, ktoré kontrolujú sekreciu ACTH, sú signifikantne redukované, mechanizmus zodpovedajúci za zníženie reakcie HHA osi u laktujúcich zvierat nie je jasný (106). Laktácia je spojená s inhibíciou reprodukčných funkcií, ale účasť siCRH neurónu v tejto inhibícii nebola dokázaná. Aktivácia siCRH neurónu centrálnou stimuláciou alfa<sub>1</sub>-adrenergických receptorov nevyvoláva počas laktácie zvýšenú odpoveď plazmatického kortikosterónu ani zvýšenú expresiu CRH mRNA v PVN v porovnaní s kontrolami, čo jasne naznačuje, že zmenená adrenergická aktivácia siCRH neurónu by sa tiež mohla podieľať na zníženej odpovedateľnosti HHA osi na stres (114). Aj laktácia zvyšuje expresiu AVP mRNA v CRH parvocelulárnych neurónoch, ktorá však nie je ďalej potenciovaná stimulovaním alfa<sub>1</sub>-adrenergických receptorov špecifickým agonistom — metoxamínom (114). Lézia kaudálnej ascendentnej noradrenergickej stimulačnej dráhy nespôsobuje ďalšiu redukciiu v odpovedi ACTH na stres počas laktácie, čo svedčí o jej neúčasti na stresovej odpovedi u laktujúcich potkanov.

Predpokladá sa, že jeden z významných faktorov zodpovedajúcich za zníženie odpovedateľnosti HHA osi na stres u laktujúcich potkanov by mohol byť v aktivácii odlišných anatomicko-funkčných okruhov regulujúcich siCRH neurón (22). Redukovaný počet aktivovaných mozgových oblastí po podaní CRH u laktujúcich samičiek v porovnaní s kontrolami jasne naznačuje rozdielnu účasť nervových štruktúr pri odpovedi na stres, čo by mohlo významne prispieť k modifikovanej reakcii HHA osi na stres (22).

Zdá sa, že niektoré mierne stresové podnety nemajú výrazný vplyv na správanie sa laktujúcich potkanov. Napríklad stres spôsobený hlukom rapídne stimuluje plazmatický kortikosterón a ACTH u kontrolných, ale nie u laktujúcich samičiek. Reakcia CRH mRNA v PVN je u laktujúcich potkanov významne nižšia ako intaktných potkanov na tento typ stresu (115). Laktujúce potkany však napriek zníženej aktivite HHA osi môžu mať normálne behaviorálne reakcie, čo naznačuje existenciu disociovanej behaviorálnej a neuroendokrinnnej reakcie na mierny stresový podnet (115).

Je pozoruhodné, že znížená génová expresia CRH mRNA, ako aj nízke plazmatické hladiny ACTH nemusia byť sprevádzané zmenenými hladinami POMC mRNA v hypofýze u laktujúcich potkanov, a teda hyperkortizolinémia spojená s laktáciou nemusí byť čisto výsledkom zvýšenej sekrecie ACTH. Normalizácia v expresii CRH a POMC génov, ako aj plazmatických hladín ACTH a kortikosterónu, nastáva pomerne rýchlo, t.j. 1—3 dni po odstavení mládat. Je možné, že počas laktácie dochádza k dočasným interakciám medzi viacerými neuroendokrinnými regulačnými centrami v hypotalame. Hoci presné neuroanatomické okolnosti tohto fyziologického javu nie sú známe, sú dôkazy o tom, že aj iné hormóny, ako napríklad prolaktín, oxytocín a AVP sú aktivované počas laktácie.

Ako sme už uviedli, CRH má podstatnú úlohu v aktivácii HHA osi počas stresu a jeho centrálna podanie imituje situáciu stresového podnetu. Centrálna podanie CRH zvyšuje pohybovú aktivitu laktujúcich matiek. Ukázalo sa však, že znížený príjem mlieka mládatami nie je spôsobený len nedostupnosťou mliečnych žliaz vzhľadom na zvýšenú pohybovú aktivitu laktujúcich samíc, ale aj vlastným centrálnym účinkom CRH, pretože znížený príjem mlieka

sa pozoroval aj u mládat, ktorých matka bola v narkóze (7). Centrálna podanie CRH zvyšuje aj hladiny plazmatického OXY u neltujúcich samíc. Tento efekt CRH dokonca pri vysokých dávkach bol úplne neúčinný v prípade laktujúcich potkanov (80). Ide o ďalší prípad neodpovedateľnosti hormónu spojeného s procesom laktácie, resp. jav, ktorý by mohol naznačovať, že jedna z príčin zníženej odpovedateľnosti na stres by mohla byť spojená so zníženou odpovedateľnosťou na endogénnu CRH (80).

## Pohlavie

Existuje mnoho informácií o tom, že u zvierat, ako aj u človeka gonadálne steroidy môžu modulovať aktivitu HHA osi (16, 50) a naopak, že HHA os má všeobecne inhibičný vplyv na aktivitu gonadálnych hormónov (36). Zdá sa však, že vzťah medzi aktivitou HHA osi a pohlavím nie je jednoduchý (89). Napr. u myší pozorovali, že v období juvenilného štádia vývoja odpovedali samičky zníženou aktivitou HHA osi na neuroendokrinný a imunitný stresor, kým samce na tieto podnety vôbec nereagovali (102).

Podnety získané počas ontogenetického vývoja jasne svedčia o tom, že estrogény majú významnú úlohu pri určovaní rozdielov v aktivite HHA osi v závislosti od pohlavia, čo svedčí o tom, že gonadálne steroidy majú aj mimoreprodukčné aktivity. Všeobecne sa usudzuje, že estrogény stimulujú, kým androgény inhibujú HHA os (36). Pohlavné rozdiely existujú aj v reakcii na stres s robustnejšou reakciou u samíc. Jeden z mechanizmov, ktorým estrogény modulujú odpovedateľnosť HHA osi na stres, je cez väzbu na vlastné receptory v CNS. V prípade androgénov výsledky naznačujú, že kontrola PVN sa deje transsynapticky. Estrogény môžu modulovať aktivitu HHA osi pravdepodobne zmenou glukokortikoidových receptorov, ktoré sú zapojené do inhibičného spätnoväzbového mechanizmu. Výsledky viacerých štúdií naznačujú, že gonadálne steroidy, obzvlášť však testosterón, modulujú aktivitu HHA osi v snahe zabrániť škodlivým vplyvom aktivácie HHA osi na reprodukčnú funkciu (36). Boli dokázané aj pohlavné rozdiely v expresii hypotalamického CRH a hipokampálnych a hypotalamických glukokortikoidových receptorov, diurnálnej sekrecii kortikosterónu, ako aj odpovedateľnosti „messengerovej“ RNA pre CRH a GR na exogénny estradiol. Neonatálna estrogenizácia výrazne ovplyvňuje aktivitu viacerých mozgových regulačných substrátov HHA osi, ako sú CRH mRNA, AVP mRNA a GR mRNA (78). Pozorovali sa aj pohlavné rozdiely v senzitivite HHA osi na aktivitu niektorých biogénnych aminor. Napr. zablokovanie vychytávania dopamínu GBR 12909 inhibítorom, sérotonínu fluoxetínom a noradrenalinu dezipramínom malo za následok vyššiu odpoveď plazmatického ACTH u samičiek ako u samcov. Samičky tiež reagovali väčším zvýšením plazmatických hladín ACTH na podanie exogénneho CRH (57). Ovariectómia znížila u samičiek odpoveď ACTH na stimuláciu HHA osi kokainom, ale kastrácia neovplyvnila reakciu samcov. Tieto výsledky demonštrujú výraznejšiu odpovedateľnosť HHA osi u samičiek na podnety rôzneho charakteru a fyziologického významu.

Alkohol je známy aktivátor HHA osi. Na tento podnet pri rovnakej koncentrácii podaného alkoholu však samičky secernujú viac ACTH a kortikosterónu ako samce. Ukázalo sa, že rozdiely sú už pozorovateľné v peripubertálnom období potkanov. U dospelých potkanov kvantitatívne menšia odpoveď HHA osi na alkohol sa pozorovala u intaktných samcov v porovnaní s gonadektomova-

nými samcami a samičkami a intaktnými samičkami, z čoho sa usudzuje, že aktivácia testikulárnych androgénov by mohla mať dôležitú úlohu v tomto procese (66, 72).

Sexuálny dimorfizmus sa pozoroval aj v plasticite AVP mRNA v závislosti od glukokortikoidov. Samičky potkanov mali vyššiu nielen bazálnu expresiu AVP mRNA v CRH neurónoch PVN, ale aj výraznejšie odpovedali poklesom AVP mRNA na substitučnú aplikáciu dexametazónu adenektomovaným zvieratám. Sexuálny dimorfizmus v kontrole AVP môže mať dôležitú úlohu pri reakcii HHA osi na stres (29).

U ľudí, ako to niektorí autori uvádzajú, starší muži preukazujú väčšiu aktivitu HHA osi v reakcii na psychosociálny stres ako staršie ženy. Pozorovania boli zamerané na hodnoty plazmatického ACTH, salivárneho voľného kortizolu a plazmatického totálneho kortizolu. Ako príčinu sexuálneho dimorfizmu uvádzajú rozdielny efekt estrogénov pri jednotlivých pohlaviach na aktivitu siCRH neurónov v hypotalame (56). Mierna hyperkortizolinémia u žien a náchylnosť k nej pri chorobách s príznakmi depresie, anxiety a nechutenstva k príjmu potravy sa tiež pripisuje priamemu stimulačnému vplyvu estrogénov na siCRH neurón (64).

Odstránenie endogénnych estrogénov má za následok takmer kompletnú normalizáciu predtým zvýšenej odpovede ACTH na stres u samičiek potkanov. Navyše ovariektomované samičky potkanov suplementované kortikosterónovými peletkami nemali schopnosť kompletne potlačiť odpoveď ACTH na stres, čo svedčí nielen o pohlavných rozdieloch v citlivosti na exogénny kortikosterón a aj o tom, že táto rozdielna citlivosť je podriadená modulačnému vplyvu cirkulujúcich gonádnych steroidov (118).

## Záver

Hypersekrecia CRH v centrálnom nervovom systéme môže prispievať k symptómom pozorovaným pri neuropsychických ochoreniach, ako sú depresia, rôzne formy anxiety a anorexia nervosa. Podstatou centrálnej hypersekrecie CRH je zvýšená aktivita HHA osi, a teda hyperaktivita siCRH neurónu (15, 43). Autoptické sledovania u osôb s Alzheimerovou chorobou a depresiou preukázali známky hyperaktivity CRH neurónov v PVN, ktoré boli sprevádzané zvýšenými hladinami CRH mRNA (85). Dokonca u pacientov s veľkou depresívnou poruchou sa zistil 4-krát vyšší počet CRH-imunoreaktívnych a 3-krát vyšší počet AVP-imunoreaktívnych neurónov v PVN (84).

Nielen systém CRH neurónov, ale aj systémy iných populácií neurónov, ako sú adrenergické, sérotoninergické a peptidergické, môžu interferovať s činnosťou CRH neurónov, ktoré zrejme za normálnych okolností tvoria jeden harmonický a značne flexibilný a adaptabilný funkčný komplex.\*

## Literatúra

1. **Aguilera G., Kiss A., Hauger R., Tizabi Y.:** Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during stress: Role of neuropeptides and neurotransmitters. S. 365–381. In: Kvetňanský R., McCarty R.J. (Eds.): Stress: Neuroendocrine and Molecular Approaches. New York, Gordon and Breach USA 1992.

2. **Aguilera G., Lightman S.L., Kiss A.:** Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during water deprivation. *Endocrinology*, 132, 1993, č. 1, s. 241–248.

3. **Aguilera G.:** Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 15, 1994, č. 4, s. 321–350.

4. **Aguilera G., Young W.S., Kiss A., Bathia A.:** Direct regulation of hypothalamic corticotropin-releasing-hormone neurons by angiotensin II. *Neuroendocrinology*, 61, 1995, č. 4, s. 437–444.

5. **Aguilera G., Jessop D.S., Harbuz M.S., Kiss A., Lightman S.L.:** Differential regulation of hypothalamic pituitary corticotropin releasing hormone receptors during development of adjuvant-induced arthritis in the rat. *J. Endocrinol.*, 153, 1997, č. 2, s. 185–191.

6. **Al-Damluji S.:** Adrenergic mechanisms in the control of corticotropin secretion. *J. Endocrinol.*, 119, 1988, č. 1, s. 4–14.

7. **Almeida O.F., Yassouridis A., Forgas-Moya I.:** Reduced availability of milk after central injections of corticotropin-releasing hormone in lactating rats. *Neuroendocrinology*, 59, 1994, č. 1, s. 72–77.

8. **Antoni F.A.:** Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: Advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor. *Endocr. Rev.*, 7, 1986, č. 4, s. 351–378.

9. **Arлуison M., Brocier G., Vankova M., Leviel V., Villalobos J., Tramu G.:** Demonstration of peptidergic afferents to the bed nucleus of the stria terminalis using local injections of colchicine. A combined immunohistochemical and retrograde tracing study. *Brain Res. Bull.*, 34, 1994, č. 4, s. 319–337.

10. **Baram T.Z., Yi S., Avishai-Eliner S., Schultz L.:** Development neurobiology of the stress response: multilevel regulation of corticotropin-releasing hormone function. *Ann. NY Acad. Sci.*, 814, 1997, s. 252–265.

11. **Bartanusz V., Aubry J.M., Ježová D., Baffi J., Kiss J.Z.:** Up-regulation of vasopressin mRNA in paraventricular hypophysiotrophic neurons after acute immobilization stress. *Neuroendocrinology*, 58, 1993, č. 6, s. 625–629.

12. **Berkenbosch F., de Goeij D.C.E., Del Rey A., Besedovsky H.O.:** Neuroendocrine, sympathetic and metabolic responses induced by Interleukin-1. *Neuroendocrinol.*, 50, 1989, č. 5, s. 570–576.

13. **Buijs R.M., Kalsbeek A., van der Woude T.P., van Heerikhuizen J.J., Shinn S.:** Suprachiasmatic nucleus lesion increases corticosterone secretion. *Amer. J. Physiol.*, 264, 1993, č. 6Pt2, s. R1186–R1192.

14. **Calogero A.E., Norton J.A., Sheppard B.C., Listwak S.J., Cromack D.T., Wall R., Jensen R.T., Chrousos G.P.:** Pulsatile activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during major surgery. *Metabolism*, 41, 1992, č. 8, s. 839–845.

15. **Calza L., Pozza M., Coraddu F., Farci G., Giardino L.J.:** Hormonal influences on brain ageing quality: focus on corticotropin releasing hormone-, vasopressin- and oxytocin-immunoreactive neurone in the human brain. *Neural Transm.*, 104, 1997, č. 10, s. 1095–1100.

16. **Carey M.P., Deterd C.H., DeKoning J., Helmerhorst F., de Kloet E.R.:** The influence of ovarian steroids on hypothalamic-pituitary-adrenal regulation in the female rat. *J. Endocrinol.*, 144, 1995, č. 2, s. 311–321.

17. **Carnes M., Lent S.J., Godman B., Mueller C., Szadoff J., Erisman S.:** Effect of immunoneutralization of corticotropin-releasing hormone on ultradian rhythm of plasma adrenocorticotropin. *Endocrinology*, 126, 1990, č. 4, s. 1904–1913.

\*Práca bola financovaná z grantu VEGA 2/6084.

- 18. Ceccatelli, S., Eriksson, M., Hokfelt, T.:** Distribution and coexistence of corticotropin-releasing factor neurotensin-, enkephalin-, cholecystokinin-, galanin-, and vasoactive intestinal polypeptide/peptide histidine isoleucine-like peptides in the parvocellular part of the paraventricular nucleus. *Neuroendocrinol.*, 49, 1989, č. 3, s. 309—323.
- 19. Chalmers D.T., Lovenberg T.W., de Souza E.B.:** Localization of novel corticotropin-releasing factor receptor (CRF2) mRNA expression to specific subcortical nuclei in rat brain: comparison with CRF1 receptor mRNA expression. *J. Neurosci.*, 15, 1995, č. 10, s. 6340—6350.
- 20. Chrousos G.P., Gold P.W.:** The concepts of stress and stress system disorders: Overview of physical and behavioral homeostasis. *J. Amer. Med. Ass.*, 267, 1992, č. 9, s. 1244—1252.
- 21. Chrousos G.P.:** Ultradian, circadian, and stress-related hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity — A dynamic digital-to-analog modulation. *Endocrinology*, 139, 1998, č. 2, s. 437—439.
- 22. da Costa A.P., Kampa R.J., Windle R.J., Ingram C.D., Lightman S.L.:** Region-specific immediate-early gene expression following the administration of corticotropin-releasing hormone in virgin and lactating rats. *Brain Res.*, 770, 1997, č. 1—2, s. 151—162.
- 23. Dallman M.F., Akana S.F., Levin N., Walker C.D., Bradbury M.J., Suemaru S., Scribner K.S.:** Corticosteroids and the control of function in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 746, 1994, s. 22—31.
- 24. de Goeij D.C.E., Kvetňanský R., Whitnall M., Ježová D., Berkenbosch F., Tilders F.J.H.:** Repeated stress-induced activation of corticotropin-releasing factor neurons enhances vasopressin stores and colocalization with corticotropin-releasing factor in the median eminence of rats. *Neuroendocrinol.*, 53, 1991, č. 2, s. 150—159.
- 25. de Souza E.B.:** Corticotropin-releasing factor receptors: physiology, pharmacology, biochemistry and role in central nervous system and immune disorders. *Psychoneuroendocrinology*, 20, 1995, č. 8, s. 789—819.
- 26. Evans M.J., Mulligan R.S., Livesey J.H., Donald R.A.:** The integrative control of adrenocorticotrophin secretion: A critical role for corticotropin-releasing hormone. *J. Endocrinol.*, 148, 1996, č. 3, s. 475—483.
- 27. Familari M., Smith A.I., Smith R., Funder J.W.:** Arginine vasopressin is a much more potent stimulus to ACTH release from ovine anterior pituitary cells than ovine corticotropin-releasing factor. *Neuroendocrinol.*, 50, 1989, č. 2, s. 152—157.
- 28. Feldman S., Saphier D., Weidenfeld J.:** Corticosterone implants in the paraventricular nucleus inhibit ACTH and corticosterone responses and the release of corticotropin-releasing factor following neural stimuli. *Brain Res.*, 587, 1992, č. 1—2, s. 251—255.
- 29. Ferrini M.G., Grillo C.A., Piroli G., de Kloet E.R., de Nicola A.F.:** Sex difference in glucocorticoid regulation of vasopressin mRNA in the paraventricular hypothalamic nucleus. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 17, 1997, č. 6, s. 671—686.
- 30. Gaillet S., Lachuer J., Malaval F., Assenmacher I., Szafarczyk A.:** The involvement of noradrenergic ascending pathways in the stress-induced activation of ACTH and corticosterone secretions is dependent on the nature of stressors. *Exp. Brain Res.*, 87, 1991, č. 1 s. 137—180.
- 31. Geeraedts L.M.G., Nieuwenhuys R., Veening J.G.:** Medial forebrain bundle of the rat: IV. Cytoarchitecture of the caudal lateral hypothalamic part of the medial forebrain bundle bed nucleus. *J. Comp. Neurol.*, 294, 1990, č. 4, s. 537—568.
- 32. Giguere V., Labrie F.:** Vasopressin potentiates cyclic AMP accumulation and ACTH release induced by corticotropin releasing factor (CRF) in rat anterior pituitary cells in culture. *Endocrinology*, 111, 1982, č. 5, s. 1752—1754.
- 33. Gillies G.E., Linton E.A., Lowry P.J.:** Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature*, 299, 1982, č. 5881, s. 355—357.
- 34. Guillemin R., Rosenberg R.:** Humoral hypothalamic control of anterior pituitary; study with combined tissue cultures. *Endocrinology*, 57, 1955, č. 2, s. 599—607.
- 35. Halász B.:** Immunocytochemically identified afferent connections of hypophysiotrophic neurons. *Neuroendocrinol. Lett.*, 15, 1993, č. 1—2, s. 49—67.
- 36. Handa R.J., Burgess L.H., Kerr J.E., O'Keefe J.A.:** Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Horm. Behav.*, 28, 1994, č. 4, s. 464—476.
- 37. Heim C., Owens M.J., Plotsky P.M., Nemeroff C.B.:** Persistent changes in corticotropin-releasing factor systems due to early life stress: relationship to the pathophysiology of major depression and post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacol. Bull.*, 33, 1997, č. 2, s. 185—192.
- 38. Herman J.P., Schaffer M.K., Young E.A., Thompson R., Douglass J., Akil H., Watson S.J.:** Evidence for hippocampal regulation of neuroendocrine neurons of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J. Neurosci.*, 9, 1989, č. 9, s. 3072—3082.
- 39. Herman J.P., Patel P.D., Akil H., Watson S.J.:** Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. *Mol. Endocrinol.*, 3, 1989, č. 11, s. 1886—1894.
- 40. Herman J.P., Adams D., Prewitt C.:** Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinol.*, 61, 1995, č. 2, s. 180—190.
- 41. Herman J.P., Cullinan, W.E.:** Neurocircuitry of stress: Central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.*, 20, 1997, č. 2, s. 78—84.
- 42. Hisano S., Diakoku S.:** Existence of mutual synaptic relations between corticotropin-releasing factor-containing and somatostatin-containing neurons in the rat hypothalamus. *Brain Res.*, 545, 1991, č. 1—2, s. 265—275.
- 43. Holsboer F., Spengler D., Heuser I.:** The role of corticotropin-releasing hormone in the pathogenesis of Cushing's disease, anorexia nervosa, alcoholism, affective disorders and dementia. *Prog. Brain Res.*, 93, 1992, s. 385—417.
- 44. Imaki T., Nahan J.L., Rivier C., Sawchenko P.E., Vale W.:** Differential regulation of corticotropin-factor mRNA in rat brain regions by glucocorticoids and stress. *J. Neurosci.*, 11, 1991.
- 45. Ježová D., Oliver C., Jurčovičová J.:** Stimulation of adrenocorticotropin but not prolactin and catecholamine release by N-methyl-aspartic acid. *Neuroendocrinology*, 54, 1991, č. 5, s. 488—492, č. 3, s. 583—599.
- 46. Ježová D., Bartanusz V., Westergren I., Johansson B.B., Rivier J., Vale W., Rivier C.:** Rat melanin-concentrating hormone stimulates adrenocorticotropin secretion: evidence for a site of action in brain regions protected by the blood-brain barrier. *Endocrinology*, 130, 1992, č. 4, s. 1024—1029.
- 47. Ježová D., Škultétyová I., Tokarev D.I., Bakoš P., Vigaš M.:** Vasopressin and oxytocin in stress. *Ann. NY Acad. Sci.*, 771, 1995, s. 192—203.

48. Ježová D., Tokarev D.I., Rusnák M.: Endogenous excitatory amino acids involved in stress induced adrenocorticotropin and catecholamine release. *Neuroendocrinology*, 62, 1995, č. 4, s. 326–332.
49. Ježová D., Juránková E., Vigaš M.: Glutamate neurotransmission, stress and hormone secretion. *Bratisl. lek. Listy*, 96, 1995, č. 11, s. 588–596.
50. Ježová D., Juránková E., Mosnárová A., Kriška M., Škultétyová I.: Neuroendocrine response during stress with relation to gender differences. *Acta Neurobiol. Exp.*, 56, 1996, č. 3, s. 779–785.
51. Kalsbeek A., Drijfhout W.J., Westerink B.H., van Heerikhuizen J.J., van Woude T.P., van Vliet J., Buijs R.M.: GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats are implicated in the control of melatonin and corticosterone release. *Neuroendocrinology*, 63, 1996, č. 1, s. 69–78.
52. Keller-Wood M.E., Dallman M.F.: Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr. Rev.*, 5, 1984, č. 1, s. 1–25.
53. Kiss, A., Aguilera, G.: Participation of alpha-1-adrenergic receptors in the colchicine-induced release of corticotropin-releasing factor (CRF) in the median eminence of rat: An immunohistochemical demonstration. *Neuroendocrinol.*, 56, 1992, č. 2, s. 153–160.
54. Kiss A.: Morphological Aspects of the Median eminence – Place of accumulation and secretion of neuropeptides and neurohormones: A Minireview. *Gen. Physiol. Biophys.*, 16, 1997, č. 4, s. 301–309.
55. Kiss A., Palkovits M., Aguilera G.: Neural regulation of corticotropin releasing hormone (CRH) and CRH receptor mRNA in the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. *J. Neuroendocrinol.*, 8, 1996, č. 2, s. 103–112.
56. Kudielka B.M., Hellhammer J., Hellhammer D.H., Wolf O.T., Pirke K.M., Varadi E., Pilz J., Kirschbaum C.J.: Sex differences in endocrine and psychological responses to psychosocial stress in healthy elderly subjects and the impact of a 2-week dehydroepiandrosterone treatment. *Clin. Endocrinol. Metab.*, 83, 1998, č. 5, s. 1756–1761.
57. Kuhn C., Francis R.: Gender difference in cocaine-induced HPA axis activation. *Neuropsychopharmacol.*, 16, 1997, č. 6, s. 399–407.
58. Kwak S.P., Young E.A., Akil H., Watson S.J.: Changes in proopiomelanocortin primary transcript levels in the anterior pituitary accompany increased adrenocorticotropin secretion during the diurnal surge. *J. Neuroendocrinology*, 4, 1991, č. 1, s. 21–27.
59. Kwak S.P., Young E.A., Morano I., Watson S.J., Akil H.: Diurnal corticotropin-releasing hormone mRNA variation in the hypothalamus exhibits a rhythm distinct from that of plasma corticosterone. *Neuroendocrinology*, 55, 1992, č. 1, s. 74–83.
60. Kwak S.P., Morano I., Young E.A., Watson S.J., Akil H.: Diurnal CRH mRNA rhythm in the hypothalamus: decreased expression in the evening is not dependent on endogenous glucocorticoids. *Neuroendocrinology*, 57, 1993, č. 1, s. 96–105.
61. Lipovits Zs., Paull W.K., Setalo G., Vigh S.: Evidence for local corticotropin releasing factor (CRF)-immunoreactive neuronal circuits in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. An electron microscopic immunohistochemical analysis. *Histochemistry*, 83, 1985, č. 1, s. 5–16.
62. Lovenberg T.W., Chalmers D.T., Liu C., de Souza E.B.: CRF2 alpha and CRF2 beta receptor mRNAs are differentially distributed between the rat central nervous system and peripheral tissues. *Endocrinology*, 136, 1995, č. 9, s. 4139–4142.
63. Macho L.: Development of thyroid and adrenal function during ontogenesis. *Bratislava, VEDA* 1979, s. 1–145.
64. Magiakou M.A., Mastorakos G., Webster E., Chrousos G.P.: The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system. *Ann. NY Acad. Sci.*, 816, 1997, s. 42–56.
65. McKinley M.J., McAllen R.M., Mendelsohn F.A.O., Allen A.M., Chai S.Y., Oldfield B.J.: Circumventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. *Front. Neuroendocrinol.*, 11, 1990, č. 2, s. 91–127.
66. McCormick C.M., Furey B.F., Child M., Sawyer M.J., Donohue S.M.: Neonatal sex hormones have 'organizational' effects on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of male rats. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 105, 1998, č. 2, s. 295–307.
67. Meaney M.J., Diorio J., Francis D., Widdowson J., LaPlante P., Caldji C., Sharma S., Seckl J.R., Plotsky P.M.: Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. *Dev. Neurosci.*, 18, 1996, č. 1–2, s. 49–72.
68. Moga M.M., Saper C.B.: Neuropeptide-immunoreactive neurons projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus in therat. *J. Comp. Neurol.*, 346, 1994, č. 1, s. 137–150.
69. Morano M.I., Vazques D.M., Akil H.: The role of the hippocampal mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis of the aged Fischer rat. *Mol. Cell Neurosci.*, 5, 1994, č. 5, s. 400–412.
70. Mouri T., Itoi K., Takahashi K., Suda T., Murakami O., Yoshinaga K., Andoh N., Ohtani H., Masuda T., Sasano N.: Colocalization of corticotropin-releasing factor and vasopressin in the paraventricular nucleus of the human hypothalamus. *Neuroendocrinol.*, 57, 1993, č. 1, s. 34–39.
71. Nemeroff C.B., Widerlov E., Bissette G., Walleus H., Karlsson I., Eklund K., Kilts C.D., Loosen P.T., Vale W.: Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science*, 226, 1984, č. 4680, s. 1342.
72. Ogilvie K.M., Rivier C.: Gender difference in alcohol-evoked hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat: ontogeny and role of neonatal steroids. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 20, 1996, č. 2, s. 255–261.
73. Ono N., Bedran de Castro J.C., McCann S.M.: Ultrashort-loop positive feedback of corticotropin (ACTH)-releasing factor to enhance ACTH release in stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 1985, č. 22, s. 3528–3531.
74. Pacák K., Palkovits M., Kvetňanský R., Kopin I.J., Goldstein D.S.: Stress-induced norepinephrine release in the paraventricular nucleus of rats with brainstem hemisections: A microdialysis study. *Neuroendocrinol.*, 58, 1993, č. 2, s. 196–201.
75. Palkovits M.: Neuropeptides in the median eminence. *Peptides*, 3, 1982, č. 3, s. 299–303.
76. Palkovits M.: Anatomy of neural pathways affecting CRH secretion. *Ann. NY Acad. Sci.*, 512, 1987, s. 139–148.
77. Parkes D., Rivest S., Lee S., Rivier C., Vale W.: Corticotropin-releasing factor activates c-fos, NGFI-B, and corticotropin-releasing factor gene expression within the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Mol. Endocrinology*, 7, 1993, č. 10, s. 1357–1367.
78. Patchev V.K., Hayashi S., Orikasa C., Almeida O.F.: Implications of estrogen-dependent brain organization for gender differences in hypothalamo-pituitary-adrenal regulation. *FASEB J.*, 9, 1995, č. 5, s. 419–423.

- 79. Patchev V.K., Montkowski A., Rouskova D., Koranyi L., Holsboer F., Almeida O.F.:** Neonatal treatment of rats with the neuroactive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events. *J. Clin. Invest.*, 99, 1997, č. 5, s. 962—966.
- 80. Patel H., Chowdrey H.S., Lightman S.L.:** Lactation abolishes corticotropin-releasing factor-induced oxytocin secretion in the conscious rat. *Endocrinology*, 128, 1991, č. 2, s. 725—727.
- 81. Pierret P., Christolomme A., Bosler O., Perrin J., Orsini J.C.:** Catecholaminergic projections from the solitary tract nucleus to the perifornical hypothalamus. *Brain Res. Bull.*, 35, 1994, č. 2, s. 153—159.
- 82. Plotsky P.M., Meaney M.J.:** Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 18, 1993, č. 3, s. 195—200.
- 83. Raadsheer F.C., Sluiter A.A., Ravid R., Tilders F.J., Swaab D.F.:** Localization of corticotropin-releasing hormone (CRH) neurons in the paraventricular nucleus of the human hypothalamus; age-dependent colocalization with vasopressin. *Brain Res.*, 615, 1993, č. 1, s. 50—62.
- 84. Raadsheer F.C., Hoogendijk W.J., Stam F.C., Tilders F.J., Swaab D.F.:** Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. *Neuroendocrinology*, 60, 1994, č. 4, s. 436—444.
- 85. Raadsheer F.C., VanHeerikhuizen J.J., Lucassen P.J., Hoogendijk W.J., Tilders F.J., Swaab D.F.:** Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in the paraventricular nucleus of patients with Alzheimer's disease and depression. *Amer. J. Psychiat.*, 152, 1995, č. 9, s. 1372—1376.
- 86. Rehorek A., Laucher J., Brun P., Gonon F., Tappaz M.:** Stimulation of catecholaminergic neurons in the ventral medulla by various stressors monitored with in vivo electrochemistry. *Brain Res.*, 543, 1991, č. 1, s. 170—174.
- 87. Reul J.M.H.M., de Kloet E.R.:** Two receptor systems for corticosterone in rat brain: Microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117, 1985, č. 6, s. 2505—2511.
- 88. Rivier J., Spiess J., Vale W.:** Characterization of rat hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 1983, s. 4851—4855.
- 89. Rivier C.:** Stimulatory effect of interleukin-1 beta on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the rat: influence of age, gender and circulating sex steroids. *J. Endocrinol.*, 140, 1994, č. 3, s. 365—372.
- 90. Rivest S., Laflamme N., Nappi R.E.:** Immune challenge and immobilization stress induce transcription of the gene encoding the CRF receptor in selective nuclei of the rat hypothalamus. *J. Neurosci.*, 15, 1995, č. 4, s. 2680—2695.
- 91. Rowe W., Viay V., Meaney M.J., Quirion R.:** Stimulation of CRH-mediated ACTH secretion by central administration of neurotensin: Evidence for the participation of the paraventricular nucleus. *J. Neuroendocrinol.*, 7, 1995, č. 2, s. 109—117.
- 92. Saphier D.:** Catecholaminergic projections to tuberoinfundibular neurons of the paraventricular nucleus. I. Effects of stimulation of A1, A2, A6 and C2 cell groups. *Brain Res. Bull.*, 23, 1989, č. 6, s. 389—395.
- 93. Saffran M., Schally A.V.:** The release of corticotropin by anterior pituitary tissue in vitro. *Canad. Biochem. Physiol.*, 33, 1955, č. 3, s. 408—415.
- 94. Sakai Y., Horiba N., Sakai K., Tozawa F., Kuwayama A., Demura H., Suda T.:** Corticotropin-releasing factor up-regulates its own receptor gene expression in corticotropinoma cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 1997, č. 4, s. 1229—1234.
- 95. Sapolsky R.M., Krey L.C., McEwen B.S.:** Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 1984, č. 19, s. 6174—6177.
- 96. Sawchenko P.E., Swanson L.W.:** The organization of the noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. *Brain Res.*, 257, 1982, č. 3, s. 275—325.
- 97. Sawchenko P.E., Swanson L.W.:** Organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 218, 1983, č. 2, s. 121—144.
- 98. Sawchenko P.E., Swanson L.W., Vale W.W.:** Co-expression of corticotropin-releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 1984, č. 6, s. 1883—1887.
- 99. Shanks N., Larocque S., Meaney M.J.:** Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: early illness and later responsiveness to stress. *J. Neurosci.*, 15, 1995, č. 1, s. 376—384.
- 100. Shibahara S., Morimoto Y., Furutani Y., Notake M., Takahashi H., Shimizu S., Horikawa S., Numa S.:** Isolation and sequence analysis of the human corticotropin-releasing factor precursor gene. *EMBO J.*, 2, 1983, č. 5, s. 775—779.
- 101. Spencer R.L., Kim P.J., Kalman B.A., Cole M.A.:** Evidence for mineralocorticoid receptor facilitation of glucocorticoid receptor-dependent regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Endocrinology*, 139, 1998, č. 6, s. 2718—2726.
- 102. Spinedi E., Chisari A., Pralong F., Gaillard R.C.:** Sexual dimorphism in the mouse hypothalamic-pituitary-adrenal axis function after endotoxin and insulin stresses during development. *Neuroimmunomodulation*, 4, 1997, č. 2, s. 77—83.
- 103. Swanson L.W., Sawchenko P.E., Rivier J., Vale W.:** Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology*, 36, 1983, č. 3, s. 165—186.
- 104. Swanson L.W., Simmons D.M.:** Differential steroid hormone and neural influences on peptide mRNA levels in CRH cells of the paraventricular nucleus: A hybridization histochemical study in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 285, 1989, č. 4, s. 413—435.
- 105. Škultétyová I., Kiss A., Ježová D.:** Gene expression of hypothalamic peptides corticotropin-releasing hormone, vasopressin, and oxytocin during stress. *Endocrine Regulations*, 31, 1997, č. 3, s. 167—176.
- 106. Toufexis D.J., Walker C.D.:** Noradrenergic facilitation of the adrenocorticotropin response to stress is absent during lactation in the rat. *Brain Res.*, 373, 1996, č. 1—2, s. 71—77.
- 107. Uht R.M., McKelvy J.F., Harrison R.W., Bohn M.C.:** Demonstration of glucocorticoid receptor-like immunoreactivity in glucocorticoid-sensitive vasopressin and corticotropin-releasing factor neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *J. Neurosci. Res.*, 19, 1988, č. 4, s. 405—411.
- 108. Vale W., Spiess J., Rivier J.:** Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and B-endorphin. *Science*, 213, 1981, č. 5414, s. 1394—1397.
- 109. Valentino R.J., Page M.E., Luppi P.H., Zhu H., Van Bockstaele E., Aston-Jones G.:** Evidence for widespread afferents to Barrington's

nucleus, a brainstem region rich in corticotropin-releasing hormone neurons. *Neuroscience*, 62, 1994, č. 1, s. 125–143.

**110. van Oers J.W., Hinson J.P., Binnekade R., Tilders F.J.:** Physiological role of corticotropin-releasing factor in the control of adrenocorticotropin-mediated corticosterone release from the rat adrenal gland. *Endocrinology*, 130, 1992, č. 1, s. 282–288.

**111. Vigaš M.:** Central regulation of adenohipophyseal function. *Vnitř. Lék.*, 35, 1989, č. 3, s. 242–248.

**112. Vigaš M., Ježová D.:** Activation of the neuroendocrine system during changes in homeostasis during stress conditions. *Bratisl. lek. Listy*, 97, 1996, č. 2, s. 63–71.

**113. Whitnall M.H., Smyth., Gainer H.:** Vasopressin coexists in half of the corticotropin-releasing factor axons present in the external zone of the median eminence in normal rats. *Neuroendocrinology*, 45, 1987, č. 5, s. 420–424.

**114. Windle R.J., Brady M.M., Kunanandam T., da Costa A.P., Wilson B.C., Harbuz M., Lightman S.L., Ingram C.D.:** Reduced response of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to alpha-1-agonist

stimulation during lactation. *Endocrinology*, 138, 1997, č. 9, s. 3741–3748.

**115. Windle R.J., Wood S., Shanks N., Perks P., Conde G.L., da Costa A.P., Ingram C.D., Lightman S.L.:** Endocrine and behavioral responses to noise stress: comparison of virgin and lactating female rats during non-disrupted maternal activity. *J. Neuroendocrinol.*, 9, 1997, č. 6, s. 407–414.

**116. Yi S.J., Masters J.N., Baram T.Z.:** Effects of a specific glucocorticoid receptor antagonist on corticotropin releasing hormone gene expression in the paraventricular nucleus of the neonatal rat. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 73, 1993, č. 2, s. 253–259.

**117. Young W.S.:** Corticotropin-releasing factor mRNA in the hypothalamus is affected differently by drinking saline and by dehydration. *FEBS Lett.*, 208, 1986, č. 1, s. 158–162.

**118. Young E.A.:** Sex differences in response to exogenous corticosterone: a rat model of hypercortisolemia. *Mol. Psychiatry*, 1, 1996, č. 4, s. 313–319.

Received November 25, 1998.

Accepted September 24, 1999.