

## Endocrinología celular y molecular

Malagón Poyato MM<sup>1</sup>, García Navarro S, Ruiz Navarro A, Martínez Fuentes AJ, Vázquez Martínez R, Durán Prado M, Rodríguez Pacheco F, Molina Sánchez M, Cruz García D, Gutiérrez Pascual E, Díaz-Ruiz Ruiz A, Gahete Ortiz M, Pulido Toledano M, Castaño Fuentes JP

Dep. Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Edificio Severo Ochoa (C6), planta 3ª, Campus de Rabanales s/n, 14014 Córdoba; Tel: 957218595; Fax: 957218634; Web: <<http://www.uco.es/investiga/grupos/endoceular/index.html>>;  
<sup>1</sup>CE: <[bc1mapom@uco.es](mailto:bc1mapom@uco.es)>

### RESUMEN

El correcto funcionamiento y homeostasis del organismo requieren un control de la secreción hormonal, cuyos defectos producen graves desórdenes endocrinos y metabólicos. Esta regulación mediada por la interacción hormona-receptor culmina en la modificación de la actividad celular, previa a la cual, se ven afectadas toda una serie de proteínas que participan en el control de la ruta de secreción regulada, facilitando el procesamiento, clasificación, tráfico intracelular y exocitosis de la hormona en cuestión. En relación al control de la secreción de la GH y a los factores reguladores de dicho proceso, se estudia el control de la secreción de la GH por la SRIF, así como su regulación por factores periféricos como la adiponectina.

Palabras clave: SRIF, receptores de somatostatina, sst, eje somatotrópico, señales periféricas, adipoquinas.

### Introducción

El correcto funcionamiento y homeostasis del organismo no serían posibles sin un adecuado control de la secreción hormonal, cuyos defectos producen graves desórdenes endocrinos y metabólicos. La regulación de la secreción hormonal es un proceso sumamente complejo, dependiente de estímulos extracelulares, hormonas, que son transducidos a señales intracelulares mediante su interacción con receptores, que activan la maquinaria celular mediante la regulación de rutas de señal específicas. Esta regulación mediada por la interacción hormona-receptor culmina en la modificación de la actividad celular, previa a la cual, se ven afectadas toda una serie de proteínas que participan en el control de la ruta de secreción regulada, facilitando el procesamiento, clasificación, tráfico intracelular y exocitosis de la hormona en cuestión.

En los últimos años, los integrantes del Grupo de Endocrinología Celular y Molecular hemos investigado las diferentes etapas del proceso secretor, así como los factores extrínsecos e intrínsecos relacionados con este proceso, tanto en condiciones normales como patológicas, empleando como modelo las diferentes poblaciones celulares hipofisarias. Específicamente, se están utilizando las células somatotropas, productoras de la hormona del crecimiento (GH), para analizar tanto los factores hormonales como los receptores y rutas de señalización que regulan su secreción, incluyendo factores hipotalámicos clásicos, como el factor estimulador de la secreción de GH, GHRH, y el factor inhibidor, somatostatina o SRIF a, así como otros factores periféricos, tales como la ghrelina, adiponectina y resistina b, cuyo efecto se está estudiando además, sobre la secreción de corticotropina o ACTH en células corticotropas.

Otro modelo celular utilizado, es el de las células

melanotropas, productoras de melanotropina,  $\alpha$ MSH, modelo idóneo para el estudio de los aspectos relacionados con el procesamiento, clasificación, tráfico intracelular y exocitosis de la hormona y que nos ha permitido la reciente identificación y caracterización de dos proteínas, Rab18 y NECC-1, posiblemente clave en el control diferentes etapas del proceso secretor.

En relación al control de la secreción de la GH y a los factores reguladores de dicho proceso, actualmente hay dos líneas que abordan el tema, aunque a diferentes niveles. Así, por un lado, se estudia el control de la secreción de la GH por la SRIF, y por otro lado, su regulación por factores periféricos como la adiponectina.

### Control de la secreción de la hormona del crecimiento

La **SRIF** es un neuropéptido, conocido comúnmente por su capacidad inhibitoria de la secreción endocrina y exocrina, que actúa a través de una familia de al menos cinco receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), denominados **receptores de somatostatina** o **sst** (sst1-5). En la célula somatotropa porcina, la SRIF regula la secreción de GH de forma negativa, pero de forma peculiar, a dosis bajas, en el rango de pM, estimula la secreción basal de GH de forma directa y específica en cultivos primarios de células hipofisarias porcinas. En esta respuesta diferencial a SRIF, subyacen mecanismos de transducción de señales diferentes, estando la respuesta estimuladora asociada a una estimulación de la adenilato ciclasa (AC) (Ramírez et al, 2002), así como de la óxido nítrico sintasa (NOS) (Luque et al, 2005). Es más, nuestros resultados sobre la medida de la secreción de GH empleando agonistas específicos para cada sst, ha permitido atribuir el papel inhibitorio a los receptores psst1 y psst2, mientras que uno de estos receptores, el psst5, parece ser el responsable de mediar las respuestas estimuladoras (Luque et al, 2006).

Tras la obtención de estos resultados, se comenzó la clonación y caracterización, en modelos celulares heterólogos, de los psst, especialmente de los tres receptores mencionados anteriormente; psst1, psst2 y psst5. Su caracterización funcional, mostró que todos se comportan como receptores inhibidores clásicos, ya que regulan de forma negativa la AC, lo que impide poder atribuir el papel de receptor estimulador al psst5, al menos de forma aislada. Aunque de momento, no podemos esclarecer este efecto, durante el proceso de caracterización de los sst, se aislaron a partir de ARNm procedente de hipófisis porcinas, dos isoformas, curiosamente del psst5, originadas por procesamiento diferencial del ARNm, y que codifican receptores truncados de 6 y 4 DTM, llamados psst5B y psst5C.

Estudios funcionales demuestran que aunque no modulan la AC en respuesta a agonistas, sí incrementan el nivel de Ca<sup>2+</sup> intracelular, el psst5B en respuesta a SRIF, y el psst5C en respuesta a CST, un análogo natural de la somatostatina. Utilizando la técnica de FRET, que permite la medida de la interacción física, previamente puesta a punto en el caso del receptor psst2 (Durán-Prado et al, 2007), hemos podido comprobar que los receptores psst1, psst2 y psst5, además de homodimerizar, heterodimerizan de forma selectiva formando "megareceptores". Es más, ambos psst5B y psst5C, a pesar de carecer de varios DTMs, se ensamblan para formar complejos oligoméricos que están localizados de forma preferente en compartimentos intracelulares y también son capaces de interactuar con el resto de psst y de alterar su localización en membrana plasmática.

En conjunto, estos resultados hacen pensar en los psst, no como entidades aisladas, sino como un "interactoma" en el que las posibilidades de interacción son múltiples y probables. Recientemente hemos aislado dos isoformas del sst5 humano, hsst5B y hsst5C, de 5 y 4 DTMs. Ambas se comportan de forma similar a sus análogas porcinas, en términos funcionales, de localización subcelular y de interacción física con los hsst no truncados. Sus transcritos se detectaron en tumores hipofisarios y especialmente en tumores de mama, donde se encontró coexpresión con otros ssts. Su cotransfección con las isoformas no truncadas hsst2 y hsst5A resultó en la alteración de su capacidad funcional, reduciendo la capacidad de mediar aumentos en el nivel de calcio libre citosólico en respuesta a SRIF y CST, por lo que pueden representar un punto clave en la regulación de la señal desencadenada por SRIF y CST tanto en condiciones normales como en procesos patológicos.

### Señales periféricas

En los últimos años, gran parte de la investigación sobre el eje somatotrópico se ha centrado en las **señales periféricas** relacionadas con el metabolismo, ya que la GH no solo es importante en la etapa de crecimiento somático del individuo sino que juega un papel fundamental en la regulación del metabolismo intermediario, la composición corporal y el gasto energético (Mauras y Haymond, 2005). Por otra parte, cada vez es más evidente que el tejido adiposo, además

de actuar como reservorio de grasa, es un órgano endocrino activo que secreta numerosas proteínas con actividad biológica, denominadas adipoquinas, tres de las cuales están directamente implicadas en el control de la homeostasis energética: leptina, resistina y **adiponectina** (Rajala y Scherer, 2003).

Existen numerosas pruebas que apoyan la influencia, directa o indirecta, de la leptina sobre la producción de GH (Zieba et al, 2005) mientras que aún se desconoce el efecto de las otras dos adipoquinas sobre el eje somatotrópico. Debido a la importancia de la adiponectina como una proteína con propiedades cardioprotectoras, antiinflamatorias y antidiabéticas (Kadowaki y Yamauchi, 2005; Ouchi et al, 2006), nos hemos centrado en el estudio de esta adipoquina y su posible participación en la regulación de la secreción de GH. La adiponectina es una proteína de 230 aminoácidos sintetizada y secretada por los adipocitos cuyas acciones están presumiblemente mediadas por dos tipos de receptores denominados AdipoR1 y AdipoR2 (Kadowaki y Yamauchi, 2005).

No solo el tejido adiposo es fuente de esta adipoquina, ya que recientemente se ha demostrado que también se expresa en hipófisis (Maddineni et al, 2005) y nuestros estudios llevados a cabo con células adenohipofisarias de rata en cultivo han demostrado que además de la adipoquina, la glándula expresa AdipoR1 y AdipoR2 lo que sugiere que la adiponectina puede tener efectos reguladores locales en esta glándula endocrina. Nuestros estudios han demostrado que efectivamente, adiponectina regula la actividad secretora de las somatotropas de rata in vitro, disminuyendo la secreción basal de la misma (Rodríguez-Pacheco et al, 2007). Además, hemos observado que no solo disminuye los niveles de secreción de GH sino que modula la respuesta de las células somatotropas a sus reguladores principales ghrelina y GHRH.

La demostración de que en hipófisis de humano también se expresan tanto la adiponectina, como sus dos receptores, sugiere que esta adipoquina podría ejercer una acción autocrina o paracrina en esta glándula. En este sentido, nuestros datos obtenidos sobre la expresión de adiponectina en adenomas hipofisarios humanos, especialmente en corticotropinomas, así como en células de ratón AtT20, junto con su localización en los gránulos de secreción de dichas células, sugieren que las corticotropas pueden representar una fuente de adiponectina endógena. Respecto a la acción paracrina y autocrina de adiponectina producida en la hipófisis, debemos añadir que la adiponectina sistémica puede regular también la actividad de la glándula hipofisaria de manera endocrina. Recientemente se ha demostrado que en adipocitos de ratón y humanos, prolactina y GH regulan tanto la secreción de adiponectina como la expresión de AdipoR2 (Fasshauer et al, 2004; Nilsson et al, 2005). Esto nos lleva a pensar que debe existir una interrelación entre la hipófisis y el tejido adiposo que sería de gran importancia en cuanto al control del metabolismo y el balance energético.

### Agradecimientos

Financiado por Grupo PAI CVI-139 (Junta de Andalucía) y BFU2004-03883 (Ministerio de Educación y Ciencia, Spain/FEDER).

## Referencias

- Durán-Prado M, Bucharles C, González BJ, Vázquez-Martínez R, Martínez-Fuentes AJ, García-Navarro S, Rhodes SJ, Vaudry H, Malagón MM, Castaño JP (2007): Porcine somatostatin receptor 2 displays typical pharmacological sst2 features but unique dynamics of homodimerization and internalization. *Endocrinol* 148: 411-421.
- Fasshauer M, Klein J, Kralisch S, Klier M, Lössner U, Blüher M, Paschke R (2004): Growth hormone is a positive regulator of adiponectin receptor 2 in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 558: 27-32.
- Kadowaki T, Yamauchi T (2005): Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 26: 439-451.
- Luque RM, Durán-Prado M, García-Navarro S, Gracia-Navarro F, Kineman RD, Malagón MM, Castaño JP (2006): Identification of the somatostatin receptor subtypes (sst) mediating the divergent, stimulatory/inhibitory actions of somatostatin on growth hormone secretion. *Endocrinology* 147: 2902-2908.
- Luque RM, Rodríguez-Pacheco F, Tena-Sempere M, Gracia-Navarro F, Malagón MM, Castaño JP (2005): Differential contribution of nitric oxide and cGMP to the stimulatory effects of growth hormone-releasing hormone and low-concentration somatostatin on growth hormone release from somatotrophs. *J Neuroendocrinol* 17: 577-582.
- Maddineni S, Metzger S, Ocón O, Hendricks G 3rd, Ramachandran R (2005): Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology* 146: 4250-4256.
- Mauras N, Haymond MW (2005): Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? *Growth Horm IGF Res* 15: 19-27.
- Nilsson L, Binart N, Bohlooly-Y M, Bramnert M, Egecioglu E, Kindblom J, Kelly PA, Kopchick JJ, Ormandy CJ, Ling C, Billig H (2005): Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 331: 1120-1126.
- Ouchi N, Shibata R, Walsh K (2006): Cardioprotection by adiponectin. *Trends Cardiovasc Med* 16, 141-146.
- Rajala MW, Scherer PE (2003): Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 144: 3765-3773.
- Ramírez JL, Gracia-Navarro F, García-Navarro S, Torronteras R, Malagón MM, Castaño JP (2002): Somatostatin stimulates GH secretion in two porcine somatotrope subpopulations through a cAMP-dependent pathway. *Endocrinology* 143: 889-897.
- Rodríguez-Pacheco F, Martínez-Fuentes AJ, Tovar S, Pinilla L, Tena-Sempere M, Dieguez C, Castaño JP, Malagón MM. Regulation of pituitary cell function by adiponectin. *Endocrinology* 148:401-10.
- Zieba DA, Amstalden M, Williams GL (2005): Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol* 29: 166-185.