



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA A ATRIBUIÇÃO DO GRAU
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DO MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

Diana Filipa da Silva Catarino¹

**SÍNDROME DE RESISTÊNCIA AOS
GLUCOCORTICÓIDES: DO DIAGNÓSTICO À
TERAPÊUTICA**

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB ORIENTAÇÃO DE:
MESTRE ISABEL MARIA MONNEY PAIVA
PROF.^a DR.^a MARIA LEONOR VIEGAS GOMES**

Março/ 2014

¹Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina,
Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço: Rua Nª Senhora de Febres, nº18, 3060-318 Febres

Endereço de correio eletrónico: diana_catarino@hotmail.com

ÍNDICE

1. Resumo.....	5
2. <i>Abstract</i>	7
3. Lista de abreviaturas	9
4. Introdução	11
5. Material e métodos.....	13
6. Os glucocorticóides e o eixo HHSR.....	14
7. Síndromes com resistência aos glucocorticóides – generalizada e tecido-específica	16
8. Mecanismos moleculares.....	20
A. O gene e o recetor dos glucocorticóides. As isoformas proteicas	20
B. A função do recetor dos GC e os mecanismos de ação hormonal.....	23
C. Fatores que influenciam a sensibilidade aos GC	26
9. A síndrome de resistência generalizada aos GC.....	29
A. As alterações no eixo HHSR.....	30
10. A clínica.....	31
A. Casos-exemplo	35
B. Avaliação clínica	36
11. O desafio diagnóstico – estudo endocrinológico e molecular	38
A. O diagnóstico diferencial.....	41
12. As mutações e polimorfismos que causam SRGGC.....	44

A.	As mutações	44
B.	Casos-exemplo	47
C.	Os polimorfismos.....	49
13.	O tratamento.....	52
A.	Casos-exemplo	53
14.	Discussão e conclusão	54
15.	Agradecimentos	56
16.	Referências.....	57
ANEXOS	63

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 DOENÇAS COM RESISTÊNCIA AOS GLUCOCORTICÓIDES. CLASSIFICAÇÃO DAS RESISTÊNCIAS.	18
TABELA 2 A CLÍNICA DA SRGGC	34
TABELA 3 AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA.....	41
TABELA 4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE SRGGC E DOENÇA DE CUSHING	43

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1- REPRESENTAÇÃO SIMPLIFICADA DA REGULAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-SUPRA-RENAL NUMA SITUAÇÃO NORMAL E NA SÍNDROME DE RESISTÊNCIA AOS GLUCOCORTICÓIDES.....	15
FIGURA 2 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DO GENE DO RECEPTOR DOS GC E DAS ISOFORMAS PROTEICAS.....	21
FIGURA 3 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS MECANISMOS MOLECULARES DO RECEPTOR DOS GC.	25
FIGURA 4 LOCALIZAÇÃO DAS MUTAÇÕES CONHECIDAS NO GENE DO RG QUE CAUSAM SRGGC.....	45
FIGURA 5 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS POLIMORFISMOS NO GENE DO RG	49

1. RESUMO

Objetivo: Os glucocorticóides (GC) desempenham um papel fundamental na fisiologia e manutenção da homeostasia de vários sistemas, intervindo em inúmeras funções essenciais à vida do ser humano. A sua ação é mediada por recetores intracelulares específicos, que quando mutados originam resistência aos glucocorticóides, generalizada ou tecido-específica, consoante a localização da resistência. A síndrome de resistência generalizada aos glucocorticóides (SRGGC) foi descrita pela primeira vez em 1982, por George Chrousos.

Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão sistemática da clínica, das alterações genéticas e moleculares, do diagnóstico e das opções terapêuticas, desenvolvidas até a atualidade.

Métodos: Foi efetuada uma revisão da literatura publicada através da pesquisa na *Medline*, com interface de pesquisa *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), tendo sido selecionadas as referências desde 1993 até à atualidade.

Resultados: A síndrome de resistência generalizada aos GC é uma condição genética rara, familiar ou esporádica, caracterizada por insensibilidade generalizada aos GC nos tecidos-alvo. Acompanha-se de uma ativação do eixo hipotálamo-hipófise-supra renal (HHSR) e caracteriza-se por hipercortisolismo bioquímico, sem características clínicas de síndrome de Cushing, e por aumento da produção de mineralocorticóides e androgénios adrenais. O espectro clínico é amplo, desde ausência de sinais e sintomas, a casos severos de hiperandrogenismo e excesso de mineralocorticóides.

Não existem critérios uniformizados para o diagnóstico da SRGGC, sendo o diagnóstico diferencial feito com várias condições, nomeadamente com a doença de Cushing. As bases

moleculares têm sido descritas como mutações no gene do recetor dos glucocorticóides, num total de 16 mutações, até ao momento.

O tratamento passa pela administração de dexametasona, com o objetivo de suprimir o eixo HHSR e assim suprimir a produção exagerada de mineralocorticóides e androgénios.

Discussão/conclusão: Novos estudos relativamente aos mecanismos de ação dos GC, quer a nível celular, quer molecular serão de extrema importância.

A grande variedade de fenótipos clínicos e as dificuldades no diagnóstico correto podem contribuir para a baixa prevalência encontrada, uma vez que muitos casos não são reconhecidos ou estarão mal classificados.

Palavras-chave: *resistência hormonal, recetor dos glucocorticóides, gene do recetor dos glucocorticóides, mutações genéticas, resistência generalizada aos glucocorticóides, dexametasona.*

2. ABSTRACT

Objective: Glucocorticoids (GC) play an important role in physiology and maintenance of several systems' homeostasis and regulate a broad spectrum of physiological functions essential for life. The actions of glucocorticoids are mediated by specific intracellular receptors and the mutations lead to generalized or tissue-specific glucocorticoid resistance, according to the location of resistance. Generalized glucocorticoid resistance syndrome was first described, in 1982 by George Chrousos and this article aims to make a systematic review of the clinical aspects, genetic and molecular mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches of this condition, developed until now.

Methods: A review of the published literature through research in *Medline*, using *PubMed* interface (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) was conducted, to select references since 1993 until now.

Results: Generalized glucocorticoid resistance syndrome is a rare, familial or sporadic genetic condition, characterized by generalized, target-tissue insensitivity to glucocorticoids. The latter leads to the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and is characterized by hypercortisolism without characteristics of Cushing's syndrome, and increased production of adrenal androgens and mineralocorticoids. The clinical spectrum is broad, ranging from asymptomatic to severe cases of hyperandrogenism and mineralocorticoid excess.

There is no uniform set of diagnostic criteria for generalized glucocorticoid resistance syndrome. The differential diagnosis includes several conditions, one is the Cushing's disease. The molecular basis have been ascribed to mutations in the glucocorticoid receptor gene. So far a total of 16 mutations are identified.

Treatment involves administration of dexametasone. The aim of treatment is to suppress the HPA axis, thereby suppressing the excess secretion of mineralocorticoids and androgens.

Discussion/Conclusion: Research studies on the mechanisms of action of glucocorticoids at the cellular and molecular level are extremely important.

The variable clinical phenotypes and the difficulties encountered in establishing the correct diagnosis may account for the low reported prevalence of the condition, given that many cases may be unrecognized and misclassified.

Key words: *hormone resistance, glucocorticoid receptor, glucocorticoid receptor gene, gene mutations, generalized glucocorticoid resistance, dexametasone.*

3. LISTA DE ABREVIATURAS

11 β HSD – 11 beta-hidroxiesteróide desidrogenase

ACTH – Corticotropina/ hormona adrenocorticotrópica

AF-1 – Ativador de função - 1

AF-2 – Ativador de função - 2

AP-1 – Ativador da proteína - 1

AVP – Arginina-vasopressina

CBG – Globulina de ligação aos corticosteroides

CRH – Hormona de libertação da corticotropina

DBD – Domínio de ligação ao DNA

DHEA – Dihidroepiandrosterona

DHEAS – Sulfato de dihidroepiandrosterona

DMO – Densidade mineral óssea

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ERFT – Elementos de resposta aos fatores de transcrição

ERG – Elementos de resposta aos glucocorticóides

GC – Glucocorticóides

GRIP-1 – *glucocorticoid receptor-interating protein – 1*

HDL – Lipoproteína de alta densidade

HHS – Hipotálamo – hipófise – supra-renal

kDA – Kilo daltons

LBD – Domínio carboxi-terminal de ligação ao ligando

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

min – minutos

mRNA – RNA mensageiro

N - Normal

NF-kB – Fator nuclear kB

NL-1 – Localização nuclear – 1

NL-2 – Localização nuclear – 2

NTD – Domínio de transativação amino-terminal

pb – pares de bases

PCR – Reação em cadeia da polimerase

RG – Recetor dos glucocorticóides

RG α – Recetor dos glucocorticóides alfa

RG β – Recetor dos glucocorticóides beta

RM – Recetor dos mineralocorticóides

RNA – Ácido ribonucleico

SNC – Sistema nervoso central

SR – Supra-renal

SRGGC – Síndrome de resistência generalizada aos glucocorticóides

STAT- Transdutor de sinal e ativador da transcrição

TRH – Hormona de libertação da tirotrófina

TSH – Hormona tirotrófica

UFC – Cortisol livre urinário

4. INTRODUÇÃO

Os glucocorticóides (GC) desempenham um papel fundamental na regulação fisiológica e na manutenção da homeostasia de vários sistemas - cardiovascular, metabólico, imune, nervoso central ^{1,2} – intervindo no crescimento, reprodução, resposta ao stresse e em inúmeras funções essenciais à vida do ser humano.³

A ação destas hormonas é mediada por recetores intracelulares específicos e a base molecular da síndrome de resistência aos glucocorticóides (SRGGC), relaciona-se com mutações no gene que codifica o recetor específico dos GC, alterando a sensibilidade dos tecidos.

Esta síndrome pode ser classificada clinicamente, de acordo com a localização da resistência às hormonas em causa: a sensibilidade aos GC pode estar alterada em todos os tecidos do organismo, apenas nos tecidos periféricos sem afetar o hipotálamo e a hipófise ou ser limitada a tecidos específicos ou funções celulares específicas; ⁴ classificando-se a primeira hipótese como síndrome de resistência generalizada aos glucocorticóides. É sobre esta síndrome que irá sobretudo incidir o presente trabalho de revisão.

A SRGGC acompanha-se de uma ativação do eixo hipotálamo-hipófise-supra renal ⁵ e é caracterizada por hipercortisolismo sem características de síndrome de Cushing. O primeiro caso, assim caracterizado foi descrito em 1976 por Vingherhoeds *et al.* ⁶

Para além do hipercortisolismo, há também um aumento da produção de androgénios e de mineralocorticóides.⁵

O espectro clínico é extremamente variado, desde ausência de sintomas a casos graves sintomáticos, mimetizando várias doenças comuns, o que pode ser explicado pelo grau de

resistência aos GC, pela diferente sensibilidade dos tecidos-alvo aos mineralocorticóides, aos androgénios ou a ambos e pelo defeito bioquímico do recetor.⁷

A SRGGC, com esta designação, foi descrita e elucidada pela primeira vez por George Chrousos *et al*, em 1982. Em reconhecimento ao trabalho pioneiro e à extensa pesquisa neste campo, o termo “síndrome de Chrousos” tem sido usado como sinónimo para esta síndrome.⁸

Trata-se de uma condição genética rara e tem representado um desafio para os clínicos, tanto em termos diagnósticos como terapêuticos, sendo um alvo de investigação recente.⁴ Para além disso a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos da resistência implicada, tem permitido a compreensão de um grande número de doenças da comunidade moderna, desde obesidade, síndrome metabólico, depressão major e de outras, como artrite reumatóide e doenças hematológicas, em que há resistência aos glucocorticóides em tecidos ou células específicas.

Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão sistemática das alterações genéticas e moleculares implicadas no desenvolvimento da síndrome, bem como das formas de apresentação clínica, diagnóstico e opções terapêuticas desenvolvidas até a atualidade.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foi efetuada uma revisão da literatura publicada, através da pesquisa na *Medline* com interface de pesquisa *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), em 19 de Setembro de 2013. A equação da pesquisa inicial foi delineada usando a linguagem controlada MeSH (*Medical Subject Headings*): “*receptors, glucocorticoid*”[MeSH]. Seguidamente foi efetuada uma pesquisa em texto livre com a seguinte equação [“*chrousos syndrome*” or “*syndromes of glucocorticoid resistance*”]. Posteriormente foi realizado um cruzamento entre a primeira e a segunda pesquisas da seguinte forma: “*receptors, glucocorticoid*”[MeSH] and (“*chrousos syndrome*” or “*syndromes of glucocorticoid resistance*”). Assim foi possível obter 100 referências.

Foi realizada a aplicação do filtro “*limits*” para as línguas “inglês”, “espanhol” e “português”, e foram selecionadas as referências de 1993 à atualidade. Com isso foram recuperadas no total, 91 referências.

Do total de 91 artigos conseguidos, estes sofreram nova seleção: excluíram-se artigos nos quais não se avalia diretamente a associação determinada pela equação de pesquisa ou que avaliam a associação de um dos termos com outras patologias ou termos que não os pretendidos. A exclusão foi feita pelo título, pela leitura do *abstract* ou pela leitura integral do artigo.

Foram ainda incluídos 2 artigos anteriores a 1993, por leitura/análise da bibliografia das restantes referências.

Assim neste processo de elegibilidade, restaram 40 artigos para revisão.

6. OS GLUCOCORTICÓIDES E O EIXO HHSR

Os glucocorticóides são hormonas esteróides produzidas e segregadas pelo córtex da SR e exercem um papel fundamental na fisiologia humana, sendo o cortisol o glucocorticóide mais importante no organismo humano. Praticamente todos os tecidos são afetados pelos GC, que exercem a sua ação em vários órgãos e sistemas.⁹ São cruciais na integridade da função do sistema nervoso central e na manutenção da homeostasia do sistema cardiovascular e metabólico.^{1,9} Desempenham ainda uma função essencial em resposta a situações de stresse. O aumento da secreção de CG durante essas situações é fundamental na alteração das funções do sistema nervoso central, na prevenção de uma resposta inflamatória exagerada pelo sistema imune e no ajuste dos gastos energéticos.⁹ Todas estas funções são essenciais na adaptação e sobrevivência do ser humano.

Devido ao facto dos GC serem essenciais em funções de sobrevivência, a resistência completa à ação destas hormonas é incompatível com a vida, daí que *Chrousos et al*,⁹ em 1993 tenham chegado à conclusão que apenas existem síndromes parciais ou incompletos de resistência.

A concentração de glucocorticóides circulante é regulada através de um eixo elaborado, designado pela comunidade científica de eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal (HHS). Este eixo sofre influência de vários fatores, nomeadamente do ritmo circadiano, do stresse e do retrocontrolo negativo, este último exercido pelos próprios GC, nos recetores presentes a nível do hipotálamo e da hipófise.¹⁰

Em condições normais (Figura 1) a hormona de libertação de corticotropina (CRH), juntamente com a hormona arginina-vasopressina (AVP) são libertadas pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, num sistema de vasos portais.³

A CRH estimula por sua vez a adenohipófise/hipófise anterior a produzir a hormona adrenocorticotrópica/corticotropina (ACTH), que seguidamente irá estimular a glândula supra-renal (SR) a produzir as suas hormonas. Este eixo é meticulosamente regulado por um mecanismo de retrocontrolo negativo exercido pelo cortisol e mediado por recetores de glucocorticóides, localizados nos neurónios hipotalâmicos e nos corticotrofos da hipófise anterior.³

Os recetores dos glucocorticóides envolvidos no sistema de retrocontrolo estão também localizados em regiões externas ao hipotálamo.³ São exemplos disto, o tronco cerebral, onde os GC modulam a entrada de estímulos sensoriais para os neurónios hipotalâmicos, e o hipocampo onde os GC interferem com os aspetos cognitivos da resposta ao stresse, com consequências indiretas na atividade do eixo HHSR.

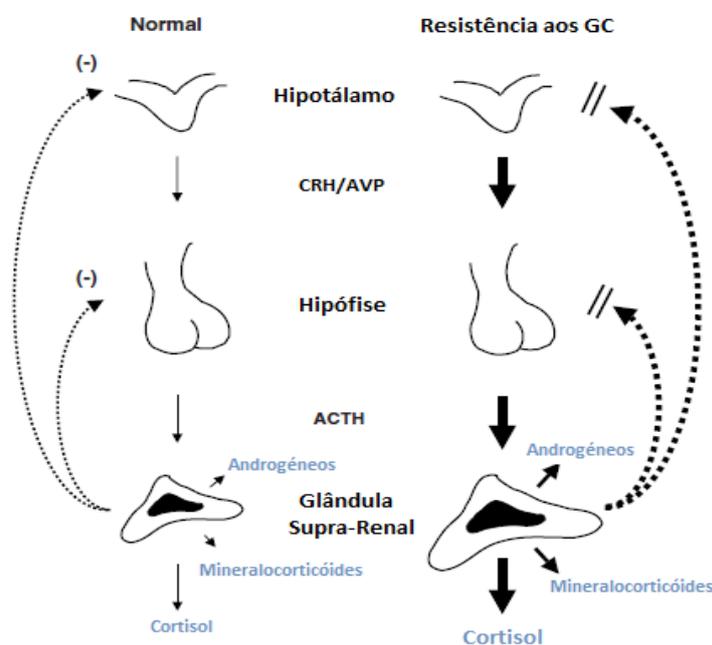


Figura 1- Representação simplificada da regulação do eixo Hipotálamo-hipófise-supra-renal numa situação normal e na síndrome de resistência aos glucocorticóides. Em condições normais a hormona de libertação de corticotropina (CRH) é libertada pelo hipotálamo, estimulando a hipófise a produzir a hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que por sua vez irá estimular a glândula supra-renal (SR) a produzir as suas hormonas. O cortisol, por mecanismo de retrocontrolo, inibe a sua própria produção a nível do hipotálamo e da hipófise. Na SRGC a primeira alteração no eixo HHS é a resistência a nível do hipotálamo e da hipófise ao retrocontrolo negativo do cortisol, na secreção de CRH e de ACTH. Como resultado, há um aumento na produção de CRH e ACTH com conseqüente aumento da produção de mineralocorticóides, androgénios e cortisol. (adaptado da referência 38)

7. SÍNDROMES COM RESISTÊNCIA AOS GLUCOCORTICÓIDES – GENEALIZADA E TECIDO-ESPECÍFICA

Os GC, tal como supracitado, apresentam um largo espectro de funções imprescindíveis para a sobrevivência e desempenham ainda um papel fundamental em intervenções terapêuticas, o que sugere que alterações na sensibilidade a estas hormonas estejam associadas e influenciem vários estados patológicos.

O presente conhecimento acerca dos mecanismos de ação dos GC a nível celular e molecular, tal como o conhecimento dos diversos efeitos, nos vários tecidos a vários níveis do organismo, tem fornecido uma visão mais alargada acerca dos estados fisiopatológicos relacionados com a sensibilidade e resistência aos GC, como se verá de seguida.

Existe uma grande complexidade associada aos mecanismos relacionados com os efeitos dos GC nos seus recetores. Para além disso, o impacto que é esperado por diferentes mutações nesses recetores, ou pelos próprios fatores celulares que interagem com eles, é muito variável.⁷ Isto faz prever que existam vários tipos de resistência aos GC, não só a resistência generalizada em todos os recetores – síndrome de resistência generalizada aos GC - mas também estados de resistência limitada a diversos tecidos ou funções celulares.⁹

Estes tipos de resistências são teoricamente possíveis quando ocorrem duas situações: se as mutações não afetam o eixo HHSR, mas afetam outros sistemas dependentes de GC, então os doentes não podem ser classificados como tendo resistência generalizada; se as mutações afetam apenas uma parte dos efeitos dos GC, como por exemplo os efeitos imunossuppressores/anti-inflamatórios, então o resultado será somente um sistema imune não reprimido.⁷

São exemplos do primeiro caso, o sistema mesolímbico/mesocortical dopaminérgico, responsável pela sensação de prazer e recompensa ou o *locus ceruleus*/sistema noradrenérgico,

responsável pelo despertar adequado e fisiologia do sono. Estes são sistemas repletos de recetores de GC,⁷ que podem ser resistentes a níveis “normais” de GC circulantes. Em ambos, a subestimulação exercida pelos GC pode conduzir a distúrbios emocionais, alterações comportamentais, comportamentos aditivos e/ou fadiga crónica. A tendência para depressão major parece estar associada a estas alterações.^{5,7}

Os exemplos representativos da resistência aos GC em determinadas funções celulares, nomeadamente no sistema imunitário/anti-inflamatório, são as doenças inflamatórias, autoimunes e alérgicas. A asma resistente aos GC, é uma doença que tem vindo a ser associada a alterações na afinidade ou no número de recetores de GC, em leucócitos e/ou células T circulantes.¹¹ Outros exemplos são a artrite reumatóide e a doença inflamatória intestinal, (também por alterações a nível dos mediadores inflamatórios), as hepatites autoimunes, a osteoartrite e o lúpus eritematoso sistémico. A resistência aos GC nestes processos inflamatórios explicam a necessidade de tratamentos com GC sintéticos potentes.³ O choque séptico tem sido também apontado como um estado transitório de resistência aos GC. Sabe-se também, que os tumores da hipófise secretores de ACTH (corticotropinomas) são resistentes aos GC, o mesmo acontecendo na síndrome de ACTH ectópica e na síndrome de Nelson.⁵

Há ainda evidência de que a resistência aos GC pode ser induzida iatrogenicamente, através da administração de antagonistas do RG, como é o caso do RU486, ou através de tratamentos com quimioterapia utilizada nas leucemias, que provocam deleções no gene do RG.⁵

Jiang *et al*¹² por exemplo, examinaram a resposta aos GC em 39 doentes com nefrite lúpica e analisaram a estrutura e função do recetor dos GC nas células mononucleares periféricas. Verificaram que não havia diferença no nível de ACTH e de GC, tal como não existia diferença na afinidade do RG entre os doentes e os controlos. No entanto, o número de RG nas células dos doentes com lúpus era menor. A análise posterior do gene do RG mostrou um polimorfismo

no exão 9, em oito dos doentes. Os autores concluíram que a resistência aos GC poderia ser explicada pelo número reduzido de recetores e pelas suas variações moleculares, tendo a resistência aos GC um papel fundamental na fisiopatologia e conseqüentemente no planeamento da terapêutica, da nefrite lúpica.

Desta forma, e tendo em conta os vários estados de resistência aos GC que conduzem a diferentes manifestações clínicas, classificam-se as doenças com resistência aos GC em: doenças com resistência generalizada e doenças com resistência tecidual localizada ou específica. Na tabela 1 encontra-se a classificação dos tipos de resistências.

Tabela 1 Doenças com resistência aos glucocorticóides. Classificação das resistências. (adaptado das referências 1 e 7)

Resistência	Manifestações
Generalizada (familiar)	Síndrome de resistência generalizada aos glucocorticóides Excesso de mineralocorticóides Excesso de androgénios
Específica de Tecido (adquirida)	Asténia/irritabilidade/sonolência
SNC	Suscetibilidade à depressão Comportamentos de adição
Sistema imune	Suscetibilidade a doenças: - <i>autoimunes</i> (ex. lúpus eritematoso sistémico, artrite reumatóide) - <i>inflamatórias</i> (ex. doença de Crohn, colite ulcerosa) - <i>alérgicas</i> (ex. asma brônquica)
Sistema cardiovascular	Hipotensão
Tecido Adiposo	Redução do tecido adiposo visceral Perda de peso
Fígado	Hipoglicémia

Enquanto a SRGGC é uma doença genética, hereditária/familiar e muito rara, como será abordado posteriormente, as restantes formas de resistência aos GC, isto é, as formas localizadas, são muito mais comuns e são formas adquiridas.^{5,13}

Van Rossum et al ⁵ afirmam que, teoricamente, uma resistência sistémica ligeira aos GC endógenos, poderia predispor a qualquer doença, que responde clinicamente bem ao tratamento com GC. Segundo o mesmo autor, as várias formas de resistência adquirida mencionadas são oportunidades para estudar esta hipótese e têm sido também excelentes oportunidades para elucidar a SRGGC.

8. MECANISMOS MOLECULARES

A. O GENE E O RECETOR DOS GLUCOCORTICÓIDES. AS ISOFORMAS PROTEICAS

Por volta do ano 1980 foi sugerido que a resistência aos GC representasse um defeito na cascata intracelular de eventos, desde a entrada dos glucocorticóides nas células até aos seus efeitos finais, a nível da função celular.⁸ Hoje, sabe-se ainda que os glucocorticóides exercem os seus efeitos através de recetores – recetores dos glucocorticóides – que funcionam como fatores de transcrição de outros genes, uma vez ligados ao seu ligando, os GC.

O gene que codifica o recetor dos GC foi isolado em 1985, através da técnica de clonagem do DNA complementar (cDNA).⁶ A partir dessa altura tem-se vindo a definir a sua estrutura primária e os seus domínios funcionais, o que tem permitido novos estudos acerca dos mecanismos moleculares de resistência aos glucocorticóides.

O recetor dos GC, designado também por alguns autores, por NR3C1,¹¹ faz parte de uma superfamília de recetores nucleares, a família dos recetores das hormonas esteróides/ tiroideias /ácido retinóico.¹ É expresso praticamente em todos os tecidos e órgãos do organismo.²

O recetor dos GC é uma proteína multifuncional, com 94 kDa de tamanho e funciona como um fator de transcrição dependente do seu ligando, regulando a expressão de genes de resposta aos glucocorticóides. Esta regulação pode ser positiva ou negativa.^{1,12}

O gene do recetor encontra-se localizado no braço longo do cromossoma 5 (q31.3) e é constituído por 9 exões.^{1,2}

O splicing alternativo no exão 9 é responsável pela formação de duas isoformas proteicas do recetor, a isoforma α (recetor dos GC α - RG α) e a isoforma β (recetor dos GC β - RG β).

Estas duas isoformas proteicas são idênticas até ao aminoácido 727, divergindo a partir daí, sendo que o RG α tem 50 aminoácidos adicionais e o RG β tem 15 aminoácidos adicionais, na extremidade carboxi-terminal.¹

O recetor é constituído por três domínios funcionais *major*: o domínio de transativação na extremidade amino-terminal (*N-terminal transactivation domain* – NTD); o domínio central de ligação ao DNA (*DNA-binding domain* – DBD), que compreende também o sítio de dimerização; e o domínio de ligação ao ligando na extremidade carboxi-terminal (*C-terminal ligand-binding domain* – LBD). Os domínios DBD e LBD estão unidos por uma região charneira (*hinge region* – HR).^{1,9,11} (Figura 2)

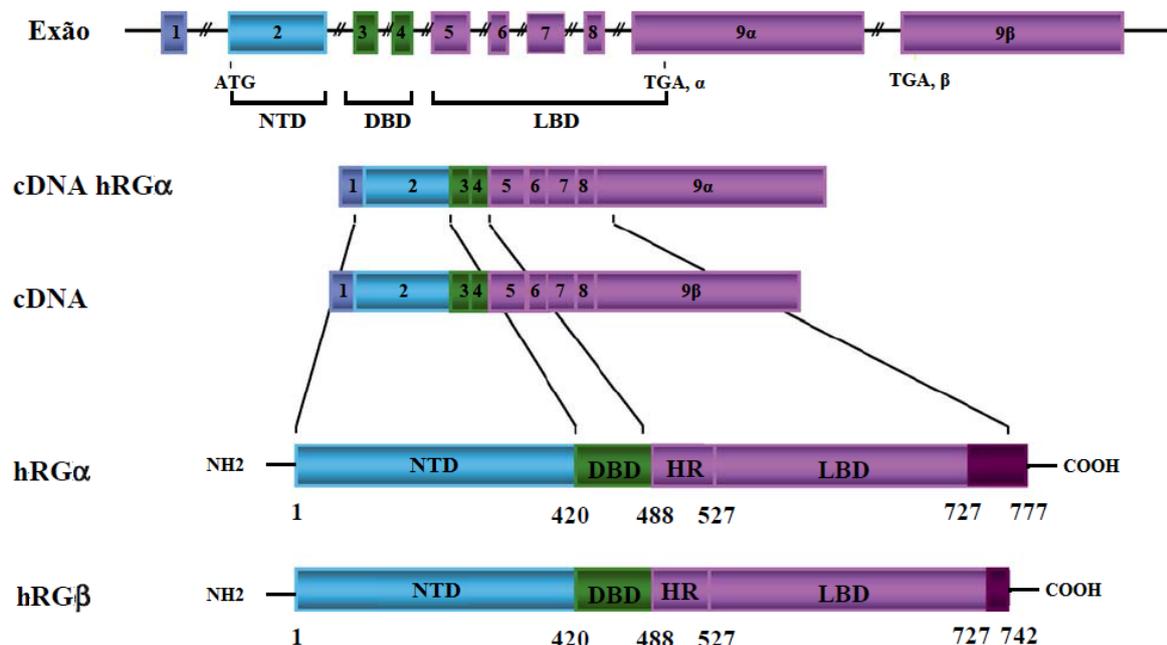


Figura 2 Representação esquemática da estrutura do gene do recetor dos GC e das isoformas proteicas. RG α (777 aminoácidos) e RG β (742 aminoácidos) resultam do *splicing* alternativo no 9º exão. Estão representados os três domínios funcionais *major* do recetor. O domínio de transativação na extremidade amino-terminal (NTD); o domínio central de ligação ao DNA (DBD); e o domínio de ligação ao ligando na extremidade carboxi-terminal (LBD). Os domínios DBD e LBD estão unidos por uma região charneira (HR). (adaptado das referências 1,10 e 15)

A região NTD do recetor é constituída pelos primeiros 420 aminoácidos e tem a função de ativação transcricional ou seja, funciona como fator de transcrição e interage com outros fatores de transcrição.

A ligação aos fatores de transcrição ou às moléculas co-ativadoras é mediada por dois domínios: os ativadores de função - AF-1 e AF-2. O AF-1 localiza-se na região amino-terminal (NTD), enquanto o AF-2 localiza-se na região carboxiterminal (LBD).

O NTD tem uma estrutura tridimensional, que se desconhece existir em outros membros da família dos recetores nucleares. É altamente imunogénico e contém os locais *major* de fosforilação do recetor dos GC. São sete sítios de fosforilação, que correspondem a seis resíduos de serina e um resíduo de treonina. A fosforilação do RG é uma das formas de modulação da sua atividade, uma vez que o recetor é uma fosfoproteína.²

A região DBD constitui a parte mais conservada dos recetores nucleares. Encontra-se localizada na parte central da sequência de aminoácidos, entre o aminoácido 420 e 488 e é responsável pelo reconhecimento das sequências de ligação no gene-alvo, denominados elementos de resposta aos GC (ERG). O domínio central de ligação ao DNA apresenta um elevado grau de homologia entre todos os recetores nucleares, sendo semelhante em todos os elementos da superfamília destes recetores. Esta região inclui dois subdomínios denominados *zinc fingers*, que constituem dois grupos de resíduos de cisteína, cada um deles mantido por um átomo de zinco.² A estrutura terciária é altamente conservada pelos resíduos de cisteína, permitindo a interação com o DNA alvo.^{2,10}

A região LBD tem uma estrutura globular terciária que consiste em doze hélices α e quatro folhas β .¹⁴ A função desta região é complexa. Desempenha uma ação central na ligação ao ligando, sendo responsável por reconhecer e se ligar aos GC. Para além disso tem sequências importantes para a translocação nuclear, para a dimerização, para a transativação do gene alvo

e para o silenciamento do recetor na ausência de ligação hormonal.^{10,13} O LBD contém ainda o já referido subdomínio de ativação funcional (AF-2), localizado junto à extremidade carboxi-terminal.

Como referido anteriormente, o gene do recetor é constituído por nove exões. O exão 1 não contém sequências codificadoras, que começam apenas no exão 2. Este exão codifica o domínio AF-1 na extremidade amino-terminal (NTD). Os exões 3 e 4 codificam as regiões designadas *zinc fingers* do domínio central (DBD). Os exões 5, 6, 7 e 8 codificam o domínio carboxiterminal (LBD) e o domínio AF-2. O exão 9 codifica as duas extremidades alternativas α e β .¹⁰

B. A FUNÇÃO DO RECETOR DOS GC E OS MECANISMOS DE AÇÃO HORMONAL

Em termos funcionais existem diferenças entre os dois recetores. A isoforma α representa o recetor clássico dos GC e é a forma biologicamente ativa, funcionando como fator de transcrição dependente do ligando. Por outro lado, o recetor β é incapaz de se ligar aos GC e de ativar a transcrição génica. As modificações dos aminoácidos no LBD são responsáveis pela redução ou perda completa da capacidade de ligação hormonal desta isoforma.¹⁰ Em 1995 foi ainda descoberto que o RG β exerce um efeito dominante negativo sobre a atividade do RG α .^{1,2} Apesar de tudo, ainda não é conhecido o papel fisiológico e patológico do RG β .

Os recetores nucleares, como são os recetores dos GC, são sintetizados nos ribossomas citoplasmáticos e a migração destas proteínas para o núcleo requer a existência de sinalização nuclear, o que faz com que a maioria deste tipo de recetores já se encontre no núcleo. O recetor dos GC é uma exceção, uma vez que na ausência do ligando, ou seja na ausência de ligação aos GC, se encontra inativo no citoplasma, estabilizado por um complexo proteico: as proteínas chaperonas (*chaperon proteins*), tais como proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* –

HSP) HSP90 e HSP 70; e outras como co-chaperonas - P23, CYP40 e imunofilina FKBP51.^{2,10,13,15,16}

Estas proteínas, principalmente a HSP90, permitem que o recetor adquira uma conformação tridimensional adequada à ligação hormonal, tal como permitem a retenção do recetor a nível citoplasmático, expondo a região de ligação ao ligando (LBD) e mascarando os locais de sinalização nuclear.^{10,15} Estes locais de sinalização nuclear designam-se por NL-1 e NL-2 (NL - *nuclear localization*). O NL-1 encontra-se localizado entre o DBD e o LBD e é responsável pelo transporte rápido do recetor, por poros nucleares através da via clássica das importinas. O NL-2 encontra-se localizado no LBD e contribui para o transporte lento do recetor para o núcleo através de uma via ainda desconhecida.¹⁶

O recetor dos GC β também forma um complexo proteico com as proteínas de choque térmico, mas localiza-se primariamente no núcleo da célula, mesmo na ausência do ligando.

A cascata de eventos que leva à ativação ou repressão da transcrição génica pelos GC (Figura 3), inicia-se então com a transposição da membrana citoplasmática da célula-alvo pela hormona, isto é pelos GC.¹⁰ A partir do momento em que há ligação do recetor aos GC, no domínio com essa função – LBD – ocorre alteração da conformação do recetor, havendo dissociação de várias proteínas do complexo proteico. Desta forma, os domínios responsáveis pela dimerização, pela translocação nuclear, pela ligação ao DNA e pela transativação são expostos. O complexo recetor-ligando sofre translocação para o núcleo com o auxílio das regiões de localização nuclear (NL-1 e NL-2). Uma vez no núcleo, o recetor liga-se através do DBD aos elementos de resposta aos GC que se encontram na região promotora de genes alvo, regulando a sua expressão positiva ou negativamente.^{2,16} As duas regiões designadas por *zinc fingers* do DBD, estabilizam o complexo RNA polimerase II facilitando a transcrição génica.

Esta regulação, também designada por regulação primária,² depende do contexto do promotor e da participação de proteínas co-ativadoras ou co-repressoras dos ERG.¹⁵

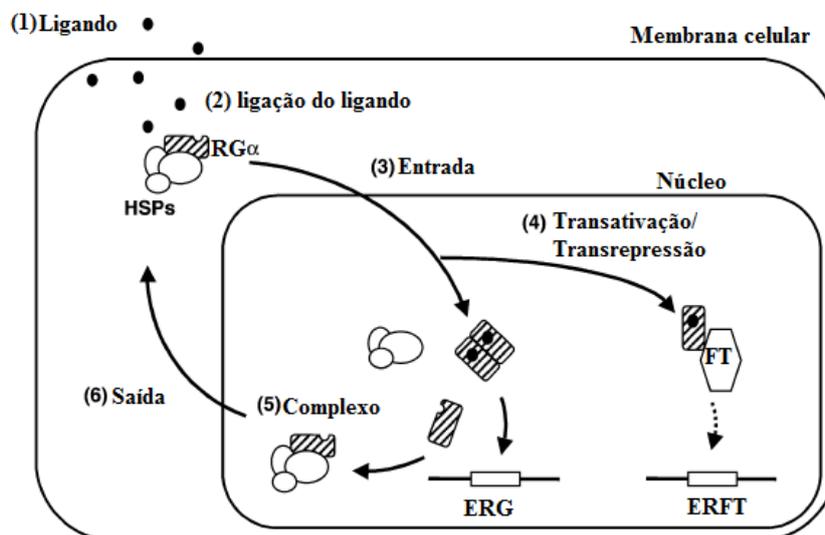


Figura 3 Representação esquemática dos mecanismos moleculares do recetor dos GC. Após ligação ao ligando (2), o recetor dos GC α ativado, dissocia-se das HSPs e ocorre a translocação para o núcleo (3), onde o recetor se liga aos elementos de resposta aos GC (ERG) na região promotora do gene alvo. (4) No núcleo, independentemente da ligação ao DNA, o recetor dos GC liga-se a fatores de transcrição (FT). (4) Depois de libertar o ligando, o recetor volta a formar o complexo com as HSP (5), abandonando o núcleo (6). ERFT – Elementos de resposta a fatores de transcrição. (Adaptado das referências 15 e 40)

O recetor dos GC também atua indiretamente na transcrição génica, modulando a ação dos fatores de transcrição, independentemente da ligação direta ao DNA dos genes alvo; isto é, o recetor clássico α tem a capacidade de interagir com outros fatores de transcrição, que funcionam como co-fatores nucleares do recetor, regulando a transcrição de sequências codificadoras. A interação entre o recetor e os fatores de transcrição é importante, no sentido em que explica os efeitos dos GC em genes que não apresentam ERG nas regiões promotoras e explica alguns dos efeitos anti-inflamatórios dos GC. Entre os fatores de transcrição encontram-se o NF- κ B (fator nuclear κ B), a AP-1 (proteína ativadora-1),^{1,2,10,15} a família P160

de co-ativadores nucleares, (da qual faz parte o co-ativador GRIP1 - *glucocorticoid receptor interacting protein 1*),¹⁵ o P53 e o STAT (transdutor de sinal e ativador da transcrição).^{1,10,15}

Após ativação ou inibição da transcrição de genes de resposta aos GC, o $RG\alpha$, dissocia-se do ligando e perde a afinidade pelos ERG, permanecendo algum tempo no núcleo e é depois exportado para o citoplasma. Tanto no interior do núcleo como no citoplasma o recetor pode a qualquer momento ser reciclado e/ou degradado nos proteossomas.¹

C. FATORES QUE INFLUENCIAM A SENSIBILIDADE AOS GC

A resposta de uma célula exposta a um GC resulta de diversos fatores, tais como a concentração de hormona livre, a capacidade da célula receber o sinal, e a capacidade de o traduzir numa resposta adequada.¹⁰

A concentração de GC é regulada pelo eixo HHSR e influenciada pela concentração da proteína de ligação aos GC – CBG.

A biodisponibilidade intracelular dos GC é modulada por duas isoformas da enzima 11 beta-hidroxiesteróide desidrogenase (11β HSD), que são responsáveis pela interconversão da forma ativa da hormona (cortisol) para a forma inativa (cortisona). A isoforma 11β HSD-1 converte a cortisona em cortisol, encontrando-se amplamente distribuída pelos tecidos, mas principalmente no fígado e no tecido adiposo. A isoforma 11β HSD-2 encontra-se principalmente nos tecidos-alvo dos mineralocorticóides, como rins, cólon e glândulas salivares, onde atua convertendo cortisol em cortisona, protegendo assim os recetores dos mineralocorticóides (RM) da ação dos GC. Os RM apresentam a mesma afinidade para o cortisol e para a aldosterona; assim, a inativação do cortisol por esta isoforma, favorece a ligação da aldosterona ao seu recetor. A biodisponibilidade dos GC é assim influenciada por

estas enzimas, cuja atividade pode estar alterada pela presença de mutações nos genes que as codificam.¹⁰

A densidade do RG é um dos fatores determinantes da capacidade de resposta aos GC; assim, os fatores que regulam a sua expressão podem interferir quer na resposta celular quer na sensibilidade aos GC. É influenciada pela fase do ciclo celular, pelo envelhecimento, por alterações primárias do recetor e por alterações endócrinas, como a síndrome de Cushing.

A resposta celular aos GC está relacionada positivamente com a expressão de recetores, que é tecido-específica, sendo máxima no timo. Os principais reguladores da expressão de recetores são os próprios GC, que por um mecanismo de *down regulation* homólogo reduzem a concentração de RG, conferindo proteção para os seus efeitos deletérios.¹⁰

A afinidade do RG para os GC também regula o efeito final de resposta às hormonas. As mutações no gene do recetor, como será abordado posteriormente, alteram a afinidade do recetor para os GC ou até mesmo a estabilidade do complexo hormona-recetor, estando associadas a síndromes clínicas de resistência aos GC.

Huizenga *et al*¹⁷ no entanto, descreveram cinco pacientes, com história clínica de resistência aos GC, com alterações no número de recetores e na afinidade de ligação hormonal, mas nos quais não foram encontradas mutações no gene do RG. Os autores concluíram que a anomalia poderia estar em qualquer local da cascata de sinalização dos GC, desde a ligação hormonal até aos mecanismos pós-recetor.

Uma das consequências da ligação dos GC ao recetor é a indução da alteração tridimensional do recetor que promove a translocação nuclear. Se a alteração conformacional for distinta do normal, não exhibe o efeito adequado, o que acontece com a introdução de um antagonista do RG, o RU 486, cuja ligação ao recetor não promove uma conformação tridimensional adequada. Isto foi demonstrado por Bamberger *et al*.¹⁸

Depois do gene do RG ser traduzido, o recetor serve de substrato a várias cinases e fosfatases, sendo fosforilado nos seus resíduos de serina e treonina presentes na extremidade amino-terminal. Quando o RG é ativado pelos GC vários aminoácidos na extremidade amino-terminal são fosforilados num padrão específico. A importância deste padrão de fosforilação ainda é pouco conhecido, no entanto sabe-se que as mutações nos sítios de fosforilação apresentam um impacto na estabilidade do recetor, no tempo de semivida e na sinalização nuclear.¹⁰

O RG é degradado pelo sistema ubiquitina-proteossoma, sendo a degradação facilitada pela fosforilação do RG, que por sua vez facilita a ação de enzimas (E2 e E3) que promovem a conjugação e ligação à ubiquitina. Quando a degradação se encontra reduzida pela inibição do complexo proteossómico, a atividade do RG está aumentada. Tanto a fosforilação como a degradação do RG modulam a sua atividade.

A translocação nuclear acelera também a resposta hormonal. A utilização de fármacos que se ligam às proteínas HSP separam-nas do recetor, facilitando a translocação nuclear com consequente aumento da transcrição mediada pelos GC.¹⁰

A capacidade do RG ativado promover a transativação dos ERG depende ainda da presença de co-ativadores, que possuem capacidade enzimática de remodelar a cromatina, libertar o DNA dos nucleossomas e permitir a interação da RNA polimerase II. Também esta etapa da cascata de transativação dos GC pode estar alterada, influenciando a sensibilidade dos tecidos aos GC.

9. A SÍNDROME DE RESISTÊNCIA GENERALIZADA AOS GC

A síndrome de resistência generalizada aos GC (SRGGC) é uma condição genética rara, familiar ou esporádica caracterizada por insensibilidade generalizada aos GC nos tecidos-alvo.¹ A SRGGC acompanha-se de uma ativação do eixo hipotálamo-hipófise-supra renal^{1,5,15} e é caracterizada por hipercortisolismo sem características de síndrome de Cushing. O primeiro caso caracterizado desta forma foi descrito em 1976, por Vingherhoeds *et al.*^{6,8,19}

A síndrome caracteriza-se, para além do hipercortisolismo, que compensa a ação reduzida dos GC nos tecidos alvo, por uma elevação da concentração de CRH e ACTH, que resulta por sua vez no aumento da produção de hormonas esteróides adrenais com atividade androgénica – androstenediona, DHEA e sulfato de DHEA – e com atividade mineralocorticóide – aldosterona, corticosterona, desoxicorticosterona.^{5,15,19}

A SRGGC propriamente dita, com esta designação, foi descrita e elucidada pela primeira vez em 1982 por George Chrousos *et al.* Os mecanismos fisiopatológicos que levam ao desenvolvimento desta síndrome, a primeira terapêutica usada e a maioria das mutações identificadas foram elucidadas pelo Professor George Chrousos e a sua equipa. Em reconhecimento ao trabalho pioneiro e à extensa pesquisa neste campo, o termo “síndrome de Chrousos” tem sido usado como sinónimo para esta condição.⁸

Vários estudos têm sido realizados no sentido de esclarecer os mecanismos moleculares pelos quais o recetor mutado afeta a transdução de sinal dos GC. Esses mecanismos incluem: a atividade transcricional do recetor mutado; a capacidade de uma mutação heterozigótica exercer um efeito dominante negativo no recetor normal; a concentração do recetor e a afinidade do recetor mutado para o ligando; a localização celular do recetor e a sua translocação nuclear após exposição ao ligando; a capacidade do recetor mutado se ligar aos ERG; a interação do recetor com co-ativadores, como o GRIP1, que pertence à família p160 de co-ativadores do recetor

nuclear e que desempenha um papel importante na transativação de genes de resposta aos GC; e a mobilidade do recetor no núcleo.⁸

Desde a sua primeira descrição já há algumas décadas, uma grande variedade de fenótipos têm sido identificados.² A síndrome tem sido descrita num pequeno número de famílias e pode ter uma transmissão autossómica dominante ou recessiva.⁵

Em 2006, Orbak *et al*² afirmam que nos casos descritos até então, a resistência era parcial ou incompleta e que nenhum dos doentes afetados mostrou ausência completa de atividade do recetor dos GC, que seria incompatível com a vida.

Embora vários estudos tenham sugerido que a perda completa da função do RG seja incompatível com a vida extrauterina, MacMahon *et al*²⁰ descreveram uma mutação em que há inativação completa da função do RG, num recém-nascido.

A. AS ALTERAÇÕES NO EIXO HHSR

Em condições normais, foi analisado anteriormente (Figura 1) o funcionamento do eixo HHSR. Na SRGGC, devido aos defeitos existentes no RG, existe uma diminuição da resposta deste para os GC. Como consequência, uma das primeiras alterações que surge é a resistência ao retrocontrolo negativo dos GC a nível hipotalâmico e hipofisário, com secreção aumentada de CRH e ACTH, libertadas no sistema porta hipofisário e na circulação sistémica, respetivamente. Há portanto uma ativação do eixo HHSR.

Como resultado, existe uma estimulação exagerada da SR, com aumento da produção de hormonas adrenais, nomeadamente cortisol, androgénios e mineralocorticóides.^{3,5} O organismo tenta encontrar um balanço entre a secreção e a utilização de GC. Os níveis elevados de GC surgem na tentativa de compensar a redução da sensibilidade que existe.²

10. A CLÍNICA

A apresentação clínica da SRGGC reflete as alterações fisiopatológicas descritas previamente.

A sensibilidade aos GC encontra-se diminuída não só a nível hipotalâmico e hipofisário, mas também a nível periférico. Desta forma, os sinais e sintomas encontrados nos doentes com SRGGC não são secundários ao excesso de GC, mas sim à produção em excesso de hormonas com atividade mineralocorticoide e androgénica.²

O espectro clínico descrito nos vários doentes identificados, é muito variável, desde formas completamente assintomáticas, apenas com alterações bioquímicas, até a uma clínica severa, potencialmente letal de hiperandrogenismo e/ou excesso de mineralocorticóides.^{2,8,15,19}

A grande variedade de espectros clínicos pode ser explicada por vários fatores: os diferentes defeitos nas vias de transdução de sinal dos glucocorticóides, mas também dos mineralocorticóides e dos androgénios; a variação no grau de sensibilidade dos tecidos aos GC, aos mineralocorticóides e aos androgénios; as variações na atividade de enzimas ativadoras e inativadoras dos GC, como a 11- β HSD ou a 5 α redutase; outros fatores epigenéticos ou genéticos, como a resistência à insulina ou a obesidade visceral;^{8,15} e ainda o tipo de transmissão – autossómica recessiva ou dominante. Para além disso os fenótipos podem variar, mesmo entre pacientes com a mesma mutação identificada.

As duas deleções identificadas no exão 9 α , descritas por McMahon *et al*²⁰ e por Donner *et al*¹⁹ por exemplo, uma homozigótica e outra heterozigótica, respetivamente, e as mutações pontuais 571 (V→A)²¹ e 714 (R→Q)¹⁴ estão associados a formas particularmente severas de resistência aos GC.¹⁹ Estes doentes foram diagnosticados antes dos 10 anos de idade e têm vários problemas endócrinos e metabólicos, incluindo défice de hormona de crescimento, hipoglicémias profundas, convulsões severas, puberdade precoce e pseudohermafroditismo.

As manifestações clínicas associadas ao défice relativo de GC podem existir, mas são raras, à exceção da fadiga crónica e da hipoglicémia.¹ A fadiga foi encontrada em vários adultos e parece estar relacionada com a compensação de alguns tecidos-alvo, resistentes à concentração elevada de cortisol, como é o caso do sistema nervoso central e do sistema músculo-esquelético.^{5,15} Relativamente à hipoglicémia, foi descrito um caso de hipoglicémia associado a convulsões tónico-clónicas, na sequência de uma doença febril, numa criança jovem¹⁴ e de um recém-nascido com hipoglicémia severa, astenia excessiva, susceptibilidade a infeções e défice de hormona de crescimento.²⁰

Devido ao excesso de produção de mineralocorticóides, os doentes apresentam-se com hipocaliémia, hipertensão arterial e alcalose metabólica.¹

No sexo feminino, em particular, pelo excesso de produção de androgénios existe adicionalmente infertilidade, padrão masculino de calvície, acne, hirsutismo e irregularidades menstruais, como amenorreia e anovulação.^{2,8,19} Mendonça *et al*²¹ em 2002, descreveram um novo fenótipo, o pseudohermafroditismo/ambiguidade sexual ao nascimento associado a hipocaliémia severa, causada por uma mutação homozigótica no gene do RG. A virilização pré e pós natal pode ocorrer no cariótipo 46,XX quando existe SRGGC. No sexo feminino também ocorre puberdade precoce independente da hormona gonadotropina.¹⁵

No sexo masculino, a produção gonadal de androgénios é muito maior que a adrenal, superando o excesso de produção ao nível da SR. No entanto, clinicamente pode apresentar-se com puberdade precoce.^{2,5} Segundo Charmandari *et al*,^{1,15} no sexo masculino a SRGGC pode ainda apresentar-se com acne, hirsutismo, oligospermia e infertilidade.

A alteração da fertilidade de ambos os sexos é devida sobretudo à inibição da secreção da hormona gonadotropina, por retrocontrolo negativo devido à concentração excessiva de androgénios.

A ansiedade profunda também é observada em alguns doentes e pensa-se estar relacionada com o aumento da concentração de CRH, de AVP e de ACTH.^{8,15,19}

Segundo Charmandari *et al*,¹⁵ as concentrações elevadas destas hormonas podem ainda predispor os doentes afetados a desenvolver adenomas hipofisários secretores de ACTH. Existe um caso referenciado na literatura, por Karl *et al*,²² em 1996, de um paciente de 33 anos de idade, com resistência generalizada esporádica aos glucocorticóides, que apresentava infertilidade, oligospermia e hipertensão arterial. Durante a investigação, foi encontrada uma mutação de novo, pontual e heterozigótica, no exão 5 do gene do RG (I559N). O recetor mutado exercia um efeito dominante negativo sob o $RG\alpha$, na capacidade de transcrição genética *in vitro* e existia também uma diminuição de 50% dos locais de ligação ao RG. A mutação foi demonstrada através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e estava presente em todos os linfoblastos e fibroblastos do doente, assim como em 50 % das células do esperma. Os pais e os sete irmãos do doente não apresentavam a mutação. Aos 38 anos, o doente desenvolveu doença de Cushing, provavelmente, devido a uma hiperestimulação corticotrófica crónica e a uma diminuição do mecanismo de retrocontrolo negativo pelos glucocorticóides, associado a um defeito somático subsequente, no controlo do ciclo celular.

Finalmente, as concentrações elevadas de ACTH circulantes podem ainda ser responsáveis pela hiperplasia de restos adrenais intratesticulares, uma das causas de tumores testiculares.²³

A maioria dos casos de SRGGC descritos são de doentes em idade adulta que se apresentam com sintomas e sinais associados a excesso de mineralocorticóides e/ou androgénios adrenais.¹⁴

Na Tabela 2 encontram-se resumidas, as alterações clínicas na SRGGC, que estão relacionadas com as respetivas alterações fisiopatológicas.

Tabela 2 A clínica da SRGGC (adaptado das referências 5,8 e15)

Alterações endócrinas		Apresentação clínica
Excesso/ défice relativo de glucocorticóides		Assintomáticos Fadiga crónica (défice relativo de glucocorticóides) Hipoglicémia
Excesso de mineralocorticóides		Hipertensão arterial Hipocaliémia Alcalose metabólica
Excesso de androgénios	Sexo feminino	Ambiguidade sexual (pseudohermafroditismo) Puberdade/adrenarca precoce Hirsutismo Acne Irregularidades menstruais - anovulação Infertilidade
	Sexo masculino	Acne Hirsutismo Puberdade precoce Oligospermia Infertilidade
Geral		Fadiga (défice relativo de GC) Ansiedade (excesso de CRH e AVP) Adenoma hipofisário secretor de ACTH Hiperplasia dos restos adrenais intratesticulares

Recentemente, tem havido um interesse crescente em perceber o papel dos GC endógenos, no desenvolvimento da síndrome metabólica. Orbak Z. *et al*² afirmam que vários estudos têm demonstrado uma associação positiva entre mutações no RG e obesidade, hipertensão arterial, e resistência a insulina. O mesmo é afirmado relativamente à relação com a progressão de diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares, no entanto os resultados contraditórios dos

vários estudos tornam difícil determinar com exatidão, o efeito das mutações no gene do RG na incidência e progressão da síndrome metabólica.

A. CASOS-EXEMPLO

Apesar da maioria dos casos ocorrer em adultos, existem casos descritos em crianças. Nader *et al*¹⁴ por exemplo, em 2010, descreveram um caso de uma criança com diagnóstico de SRGGC aos dois anos de idade. Tratou-se de uma criança do sexo feminino que nasceu de uma gestação de 35 semanas, com restrição do crescimento intrauterino, que desenvolveu convulsões tónico-clónicas seguidas de perda de consciência, após vários dias de vômitos e diarreia, aos 2 anos e 10 meses de idade. Na admissão hospitalar apresentava hipoglicémia (glicémia: 18 mg/dL), hipocaliémia (potássio sérico: 2,6 mmol/L) e hipertensão arterial (138/90 mmHg). No estudo endocrinológico, apresentava níveis plasmáticos de cortisol, ACTH e UFC (cortisol livre urinário) na urina das 24 h, elevados (81,2 ng/dL, N: 3-21; 431 pg/mL, N: 1-21 e 646 µg/dia, N: 1,4-20, respetivamente). Quanto aos valores de aldosterona e renina plasmática encontravam-se normais, mas apresentava níveis elevados de DHEA (730 ng/dL, N: 50-540) e androstenediona (7,6 ng/mL, N: 0,1-0,3).

Clinicamente apresentava clitoromegália e a idade óssea, aos 3 anos e 11 meses de idade cronológica era de 8 anos.

Os autores defendem que as crises convulsivas teriam sido devidas a hipoglicémia, exacerbada pelos sintomas gastrointestinais prévios e que a hipocaliémia teria sido muito provavelmente provocada pelo excesso de produção de mineralocorticóides, tal como pelo cortisol. A ação reduzida dos glucocorticóides a nível hepático, por resistência dos recetores, não teria estimulado a produção suficiente de glucose, que foi agravada durante a doença aguda. Segundo os autores, e até à atualidade, não foi registado nenhum caso de hipoglicémia com

convulsões subseqüentes em adultos, o que poderá indicar que esta manifestação clínica esteja associada apenas a crianças.¹⁴

Da revisão efetuada foi ainda encontrado um caso particular de SRGGC na presença de um adenoma da SR. Foi descrito por Zhu *et al*,²⁴ em 2011 e tratou-se de um homem de 56 anos de idade, completamente assintomático, ao qual foi detetado um incidentaloma da SR. Não apresentava os sintomas normalmente associados à presença de adenomas funcionais da SR, incluindo hipertensão arterial, hipocaliémia, palpitações, cefaleias e síndrome de Cushing. Em termos bioquímicos e endocrinológicos, apresentava níveis de ACTH ligeiramente elevados às 8h00 (53,7 pg/mL, N: <46) e aumento do UFC na urina das 24 horas (514,9 µg, N: 12,3-103,5). Depois da cirurgia os níveis de cortisol plasmático mantiveram-se elevados significativamente e não foram suprimidos por baixas doses de dexametasona. Pensou-se em SRGGC, que foi confirmada geneticamente. Os autores referem que a presença do adenoma poderia estar relacionada com ação prolongada de níveis elevados de ACTH, que estimularia a hiperplasia da SR, nomeadamente do adenoma.

B. AVALIAÇÃO CLÍNICA

O primeiro passo na avaliação de um doente com suspeita de SRGGC passa por obter uma história pessoal e familiar completa, com particular atenção a evidências que sugiram hiperatividade do eixo HHSR e hipersecreção de ACTH e cortisol.^{1,8} No sexo feminino, a regularidade dos ciclos menstruais deve ser pesquisada. Em crianças e adolescentes, o crescimento e o desenvolvimento sexual devem ser avaliados cuidadosamente, dado que o hiperandrogenismo está invariavelmente associado a aceleração da velocidade de crescimento, idade óssea avançada e alterações no desenvolvimento pubertário.⁸

O exame físico deve incluir a avaliação de sinais de hipercortisolismo e de hiperandrogenismo ou virilização, como acne, hirsutismo, desenvolvimento dos pelos púbicos e axilares, alopecia e clitoromegália, de acordo com escalas adequadas. A escala de Ferriman-Gallwey ou a escala de Tanner são utilizadas para avaliação do hirsutismo e da pubarca, respetivamente.⁸

A tensão arterial deve ser avaliada e preferencialmente monitorizada em 24 horas.^{1,8}

A todos os doentes devem ainda ser despistados sinais sugestivos de síndrome de Cushing e deve ser realizado um exame neurológico completo,⁸ avaliando a existência de cefaleias, alterações visuais ou convulsões.¹

11. O DESAFIO DIAGNÓSTICO – ESTUDO ENDOCRINOLÓGICO E MOLECULAR

Até ao momento, tem-se verificado a inexistência de critérios uniformizados para o diagnóstico da SRGGC. O diagnóstico é sugerido pelo aumento da concentração de cortisol sérico e de UFC na urina das 24 horas, juntamente com a ausência de características clínicas de hipercortisolismo.²⁴

Muitas vezes os sinais e sintomas que surgem, secundários aos níveis elevados de mineralocorticóides e androgénios, auxiliam no diagnóstico, no entanto os doentes podem ser assintomáticos.

A maioria dos doentes com SRGGC apresenta-se com concentrações elevadas de ACTH, (embora as concentrações possam ser normais) e de cortisol plasmático, que apesar disso, mantêm ambos o ritmo circadiano e a resposta a situações de stresse, preservadas.^{5,15}

Para além disso, o teste da supressão com 1 mg de dexametasona (um GC sintético, administrado oralmente, à meia-noite com determinação da concentração de cortisol plasmático às 8h00 do dia seguinte), não suprime adequadamente o eixo HHSR, nem o cortisol plasmático. Para alguns autores¹ o teste de supressão deveria ser realizado com doses crescentes de dexametasona (0,3mg, 0,6mg, 1,0mg, 1,5mg, 2,0mg, 2,5mg e 3 mg), em dias alternados, com determinação da concentração de cortisol plasmático às 8h00. A resistência à supressão varia de acordo com a severidade da condição. Altas doses de dexametasona são, no entanto, capazes de suprimir os níveis de cortisol destes casos. A dose de dexametasona necessária para suprimir 50% da concentração de cortisol plasmático, pode ser 7,5 vezes superior à dose necessária em indivíduos normais. Charmandari *et al*¹ sugerem que a concentração da dexametasona plasmática seja determinada também de manhã, em simultâneo com o doseamento do cortisol plasmático, no sentido de excluir a possibilidade de ter havido absorção diminuída do fármaco ou depuração aumentada, evitando falsos negativos.⁸

A concentração considerada como *cut-off* para o cortisol plasmático também não está definida, o que dificulta o diagnóstico. Não obstante Van Rossum *et al*⁵ consideram os 70nmol/L (2,75µg/dL), como o valor acima do qual é sugestivo existir resistência aos GC.

Nos casos mais severos, a concentração de cortisol plasmático pode encontrar-se 7 vezes mais elevada do que o limite superior do valor normal e a concentração de UFC na urina das 24 horas pode encontrar-se 50 vezes mais elevada.¹

As concentrações plasmáticas de esteróides da SR com ação androgénica – DHEA, DHEAS, e androstenediona – e ação mineralocorticóide – aldosterona, desoxicorticosterona e corticosterona – também se encontram elevadas.

As glândulas SR estão normais ou aumentadas de tamanho, embora este seja um achado pouco específico.⁵

Segundo Charmandari *et al*,¹ a avaliação endocrinológica deve ser realizada aos doentes suspeitos de SRGGC, determinando a concentração plasmática de ACTH, de renina e aldosterona e ainda de cortisol, testosterona, androstenediona, DHEA, DHEAS, colesterol total, colesterol HDL e LDL, triglicédeos, glucose em jejum e níveis de insulina. Para além disso defendem que deve ser doseado o UFC, na urina das 24 horas durante dois ou três dias consecutivos.

Existem vários testes experimentais que podem ser realizados adicionalmente para confirmar a SRGGC. São testes laboratoriais intensivos e muitas vezes difíceis de reproduzir.

As características do recetor dos GC podem ser analisadas, pela quantificação do número de RG, isto é pela concentração de RG existente por célula ou através da avaliação da afinidade do recetor usando uma constante de dissociação. Testar a ligação do recetor à dexametasona em células mononucleares do sangue periférico é uma forma de diagnosticar a SRRGC, que

mostra uma diminuição da afinidade do RG para o ligando, em comparação com o grupo controlo.^{8,15}

A sequenciação genética do gene do recetor, a expressão do RG e as variantes de mRNA (RG α , RG β) podem ser realizadas por PCR. A sequenciação de regiões codificadoras do gene, incluindo junções intrão/exão, mostram mutações ou deleções na maioria, mas não na totalidade dos casos de SRGGC.⁸

A avaliação *ex vivo* da sensibilidade aos GC também é possível, através da quantificação da resposta de genes alvo (como o gene da interleucina 2 ou o GLIZ - *GC-induced leucine zipper*), que são sensíveis a GC endógenos;⁵ ou quantificando a inibição pela dexametasona na proliferação mitogénica-estimulada (incorporação de timidina estimulada pela fitohemaglutinina).^{5,8,15} Em doentes com resistência aos GC, este último teste mostra resistência à supressão induzida pela dexametasona, na incorporação da timidina estimulada pela fitohemaglutinina.^{8,15}

É possível ainda obter uma linha celular, pela transformação de linfócitos B com o vírus Epstein-Barr e com esta linha celular avaliar a sensibilidade aos GC, uma vez que a regulação positiva do número de recetores durante a cultura está relacionada com a sensibilidade aos GC.⁵

Ainda no sentido de diagnosticar a SRGGC, importa frisar que, quando é encontrado um defeito estrutural no recetor, o efeito deste na função do RG deve ser confirmado *in vitro*, usando testes laboratoriais standardizados que determinem a capacidade do RG ativar a expressão dos genes alvo.^{8,15} No entanto, mesmo que todas as características funcionais do recetor estejam normais, isso não exclui que esteja presente um defeito “pós-recetor” relacionado com a transativação deste. De facto, segundo Charmandari *et al*,¹⁵ a sequenciação de regiões codificadoras do gene do RG α não revelou mutações em alguns doentes com SRGGC. Isto pode ser explicado pelo fato de certas regiões do gene não serem estudadas, como

os intrões, ou por estarem afetados outros fatores implicados na transdução de sinal dos GC – HSP, co-ativadores, corepressores ou outros fatores de transcrição, como abordado anteriormente.

Na Tabela 3 encontra-se, resumidamente, a avaliação diagnóstica dos doentes com suspeita de SRGGC.

Tabela 3 Avaliação diagnóstica (adaptado da referência 8)

Ausência de características clínicas de hipercortisolismo
Concentração de ACTH normal ou elevada
Concentração plasmática de cortisol elevada
Excreção de UFC na urina das 24 horas elevada
Ritmo circadiano de secreção de cortisol e ACTH normal
Secreção de cortisol e ACTH em resposta ao stresse normal
Resistência do eixo HHSR à supressão pela dexametasona
Estudos de ligação à dexametasona: diminuição da afinidade do RG pelo ligando em comparação com grupo controlo
Sequência génica do gene do recetor: mutações/deleções no RG; expressão do RG, variantes de mRNA (RG α e RG β).
Testes de incorporação de timidina: resistência à supressão induzida pela dexametasona na incorporação da timidina estimulada pela fitohemaglutinina

A. O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico diferencial inclui a doença de Cushing, a síndrome de Cushing, os estados de pseudo-Cushing, - como o alcoolismo, a obesidade, a síndrome de ansiedade generalizada, os estados de depressão -, e ainda outros casos de excesso de produção de mineralocorticóides -

hipertensão essencial, hiperaldosteronismo – e de androgénios - hirsutismo idiopático, síndrome do ovário poliquístico, hiperplasia congénita da suprarrenal.²⁴

Na maioria dos casos, a SRGGC pode ser facilmente distinguida de outras condições, pelas diferenças bioquímicas que existem. O diagnóstico diferencial torna-se difícil entre formas ligeiras desta síndrome e outras formas ligeiras de hipercortisolismo, tais como síndrome de Cushing precoce ou ligeiro, depressão melancólica hipercortisolémica, anorexia nervosa, alcoolismo crónico ativo e exercício intensivo.¹⁵

Relativamente à doença de Cushing alguns resultados laboratoriais são em tudo idênticos à SRGGC, nomeadamente a presença de hipercortisolismo acompanhado de níveis de ACTH normais ou elevados, no entanto, os doentes não apresentam os sinais e sintomas característicos da primeira condição, tais como a face em lua-cheia, obesidade abdominal, estrias violáceas, hiperglicémia, miopatia, entre outros, associados ao excesso de GC.⁵

Em termos laboratoriais, apesar de semelhantes, as duas situações clínicas podem ser distinguidas pelo ritmo circadiano do cortisol, que se encontra mantido na SRGGC.^{2,5} (Tabela 4)

Uma das formas de distinguir clinicamente a SRGGC e a doença de Cushing é a medição da densidade mineral óssea (DMO). Esta encontra-se diminuída na doença de Cushing, ao contrário do que acontece na SRGGC, onde a DMO está preservada, pela ausência dos efeitos deletérios dos GC ou até elevada no sexo feminino, pelo excesso de androgénios.^{2,5}

Apesar de tudo, existem variações clínicas e bioquímicas na apresentação da SRGGC que podem suscitar dúvidas no diagnóstico diferencial. Segundo Van Rossum *et al*,⁵ neste caso, a SRGGC pode ser demonstrada de forma indireta pela resposta normal da TSH sérica à administração de TRH e/ou pela demonstração da resposta normal da hormona de crescimento à hipoglicémia induzida por insulina. Ambas as situações estão alteradas na doença de Cushing.

Testes diagnósticos adicionais, citados anteriormente, relacionados com o recetor e com o seu gene podem confirmar o diagnóstico de SRGGC.

Tabela 4 Diagnóstico diferencial entre SRGGC e doença de Cushing (adaptado da referência 5)

		Doença de Cushing	SRGGC
Não distinção	Cortisol das 00h	↑	↑
	Cortisol com altas doses de dexametasona	↓	↓
	Doseamento de ACTH	Normal/ ↑	Normal/ ↑
	UFC urina das 24h	↑	↑
Distinção	Ritmo circadiano	Ausente	Presente e ↑
	DMO	↓	Normal/ ↑
	Teste de TRH	Resposta ausente	Resposta normal
	Teste de tolerância à insulina	Cortisol, ACTH e HC: não ↑	Cortisol, ACTH e HC: resposta normal

12. AS MUTAÇÕES E POLIMORFISMOS QUE CAUSAM SRGGC

A. AS MUTAÇÕES

As bases moleculares da SRGGC têm sido descritas como mutações no gene do recetor dos GC – $RG\alpha$ - que acarretam alterações nos mecanismos moleculares do recetor,^{1,25} desde diminuição da ligação ao ligando, alteração da translocação nuclear, interação anormal com co-ativadores, ou até combinação de várias alterações, que diminuem a sensibilidade dos tecidos para os GC.⁵

Ao longo da presente revisão bibliográfica, foram identificadas, desde 1982 até à atualidade, um total de 16 mutações no gene do $RG\alpha$ que alteram ou eliminam a sua atividade intrínseca e que causam a SRGGC.^{14,16,19-22,24-36}

Essas mutações estão resumidas nas tabelas em anexo, por ordem de datas em que foram descritas.

De todas as mutações contabilizam-se 12 mutações pontuais, no exões 3, 4, 5, 7, 8 e 9α com substituição de aminoácidos ao nível domínios DBD ou LBD do recetor. As restantes 4 mutações, todas localizadas em regiões do gene que codificam o LBD do $RG\alpha$, incluem a deleção de 4 nucleótidos no exão 6²⁸ e três mutações *frameshift* – uma deleção de um nucleótido no exão 6³⁶ e duas deleções de dois nucleótidos no exão 9α , uma¹⁹ atingindo os nucleótidos 2317-2318 e outra²⁰ atingindo os 2318-2319. Na Figura 4, encontra-se a representação esquemática das mutações.

De todas as mutações encontradas, 4 delas são homozigóticas^{20,21,26,27,29} e as restantes são heterozigóticas.^{14,16,19,22,24,25,28,30-36} A heterozigotia, neste caso significa uma redução da atividade biológica do recetor para metade.

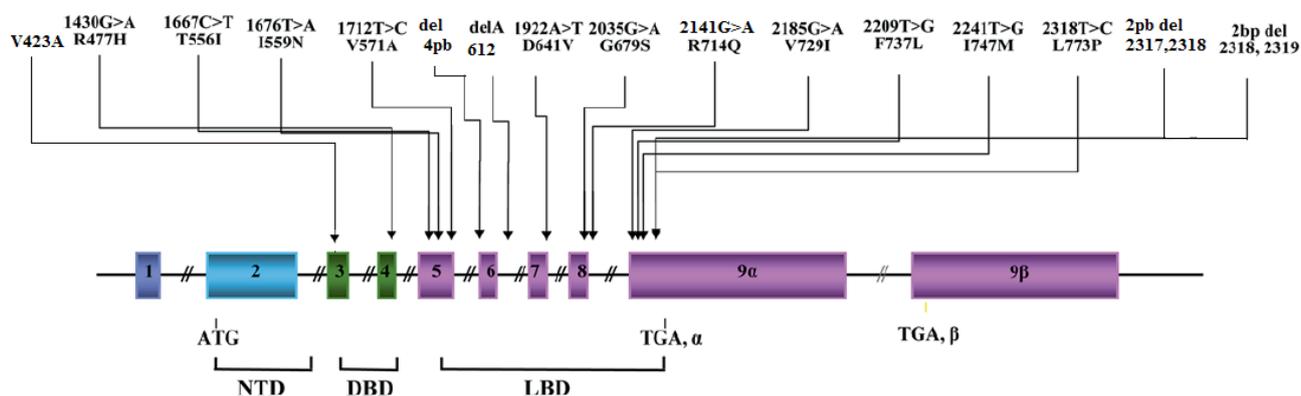


Figura 4 Localização das mutações conhecidas no gene do RG que causam SRGGC (adaptado da referência 1)

Os recetores com as mutações $RG\alpha I559N$,^{22,30} $RG\alpha I747M$,³³ $RG\alpha L773P$,³⁴ $RG\alpha F737L$,³⁵ $RG\alpha R714Q$,¹⁴ $RG\alpha R477H$,^{16,31,32} e $RG\alpha G679S$ ^{16,31,32} exercem um efeito dominante negativo no recetor não mutado, o que parece contribuir para a manifestação da doença em estados heterozigóticos presentes nestes casos, refere Charmandari,¹ em 2011.

No entanto, segundo *Donner et al.*,¹⁹ em 2013, o mecanismo pelo qual uma mutação heterozigótica, causa resistência generalizada aos GC é desconhecido, uma vez que no seu estudo foi descrita uma nova mutação heterozigótica - uma deleção de dois nucleótidos no exão 9α - e não se verificou efeito dominante negativo na atividade do $RG\alpha$, pelo recetor mutado. Os autores justificam com a possibilidade de o efeito poder ocorrer *in vivo*, apesar de não se verificar *in vitro*.

Todas têm demonstrado uma redução, embora variável, na capacidade de transativação dos ERG do DNA-alvo após exposição à dexametasona, sendo as situações mais severas observadas nas mutações R477H, I559N, V571A, e D641V, segundo Charmandari *et al.*⁸

Embora vários estudos tenham sugerido que a perda completa da função do RG seja incompatível com a vida extrauterina, MacMahon *et al*²⁰ descreveram uma mutação homozigótica em que há inativação completa função do RG, num recém-nascido.

Todos os recetores mutados nos quais as mutações estão localizadas no LBD do recetor têm mostrado uma afinidade diminuída na ligação ao ligando. Isto acontece em todas as mutações identificadas com exceção de duas, que estando localizadas no DBD têm mostrado afinidade mantida para o ligando. Tratam-se das mutações RGαV423A²⁵ e RGαR477H^{16,31,32}.

Quanto à translocação nuclear, isto é, a passagem do recetor do citoplasma para o núcleo, o tempo de translocação completa normal para o RGα é de 12 minutos.¹ A exposição à dexametasona nos vários estudos mostrou uma translocação mais lenta do recetor. O intervalo de tempo variou entre 20 minutos, na mutação RGαR477H^{31,32} e 180 minutos na mutação RGαI559N^{22,30}. Estes achados sugerem que todas as mutações afetam a translocação nuclear do recetor, provavelmente por alterarem a função dos locais de localização nuclear – NL1 e NL2.⁸

Relativamente às mutações que afetam o gene a nível do LBD, os recetores preservam a capacidade de ligação ao DNA alvo, aos ERG mas mostram uma interação anormal com o co-ativador do recetor dos GC – GRIP-1, *glucocorticoid receptor-interacting protein-1*.

As mutações que atingem o recetor no DBD – RGαV423A²⁵ e RGαR477H^{16,31,32} - alteram a ligação ao DNA, atingindo um os dos seus subdomínios (*zin fingers*) cuja função principal é contribuir para a homodimerização, um pré-requisito para a forte ligação entre o RG e os ERG e para a eficiência da transativação. Estas mutações no entanto, e ao contrário das anteriores mostram uma interação normal com o coativador GRIP-1.^{8,16,25,31,32}

Uma situação a sublinhar, ainda no que diz respeito às mutações no LBD, é a ocorrência de 3 mutações exatamente no mesmo codão (773),^{19,20,34} considerando a natureza rara desta

patologia e o número reduzido de mutações descritas. Segundo Donner *et al*, em cujo artigo foi descrita uma dessas mutações, este achado suporta a ideia de que esta região do DNA representa provavelmente, um local importante de mutações para a ocorrência desta síndrome, por razões ainda desconhecidas.¹⁹

B. CASOS-EXEMPLO

Para exemplificar, uma das primeiras mutações identificadas é referida ao ano 1993 e foi descrita por Karl *et al*.²⁸ Tratou-se de uma mulher de 26 anos de idade, que se apresentou com hirsutismo, alopecia e irregularidades menstruais, sem hipertensão arterial e concentração plasmática de potássio normal. Apesar de se apresentar com níveis muito elevados de cortisol plasmático (1110nmol/L e 1290nmol/L às 8h00 e às 9h00, N: 150 a 650), não foram suficientemente suprimidos no teste de supressão com 1mg de dexametasona, administrada à noite, com um valor de cortisol atingido de 580 nmol/L. Esta doente, apesar dos níveis elevados de cortisol, não apresentava sinais ou sintomas de exposição prolongada a excesso de GC, isto é, não apresentava síndrome de Cushing. Estudos subsequentes mostraram um eixo HHSR intacto mas ativado, com níveis elevados de cortisol, mantendo-se no entanto o ritmo circadiano normal e ainda níveis elevados de ACTH plasmático. Os níveis de androstenediona e testosterona também se encontravam elevados (10,4 nmol/L, N: 3-4,5; e 5,5nmol/L, N < 3, respetivamente). Estudos moleculares posteriores mostraram uma deleção de 4pb na fronteira entre o exão e o intrão 6, isto é, uma deleção que afeta as duas últimas bases do exão e as duas primeiras bases do intrão responsável pela SRGGC. Esta mutação foi identificada em outros dois membros da família.

Uma das últimas mutações identificadas, já em 2013 por Donner *et al*¹⁹ foi num doente de 27 anos de idade, não fumador, atleta olímpico, ao qual foi diagnosticada hipertensão arterial:

medições repetidas de tensão arterial sistólica entre 160 e 195 mmHg e tensão arterial diastólica entre 105 e 125 mmHg. Estudos subsequentes, no mesmo doente revelaram níveis de renina plasmática não mensuráveis ($< 0,2 \mu\text{g/L/h}$ – N: 2-5), aldosterona plasmática normal-baixa (203 pmol/L, N: 183-940) e potássio plasmático também normal-baixo (3,6 mmol/L, N: 3,3-4,9). Uma suspeita de SRGGC, ao fim de seis anos de estudo, fez com que se doseassem os níveis de cortisol plasmático (991 nmol/L às 8h00, N: entre 150 e 650) e ACTH plasmático (48 ng/L, N < 46), que se encontravam elevados. Foi medicado com baixas doses de dexametasona (1 mg às 11h) com falha na supressão do cortisol das 8h00 (239 e 385 nmol/L em duas medições). Uma dose mais elevada, de 2mg, resultou numa melhor supressão do cortisol plasmático, sem no entanto conseguir valores normais. Estes achados foram compatíveis com uma SRGGC, posteriormente confirmada pela presença de uma nova mutação *frameshift* no LBD do $\text{RG}\alpha$, em situação de heterozigotia.

Os mesmos autores¹⁹ afirmam que mutações no DBD e LBD não parecem constituir uma causa comum para a hipertensão arterial com níveis baixos de renina plasmática e de aldosterona, uma vez que foram avaliados 51 pacientes com este fenótipo, sem terem no entanto, a mutação no gene do recetor. Este fenótipo na SRGGC tem sido descrito como sendo causado pelos elevados níveis de cortisol, que saturam a enzima 11- β HSD, que em condições normais converte o cortisol em cortisona, prevenindo a ligação do cortisol aos recetores dos mineralocorticóides (RM). Dessa forma na SRGGC, a ligação inapropriada do cortisol aos RM causa um aumento da reabsorção de sódio com consequente expansão do volume extracelular, o que contribui para os níveis baixos de renina e de aldosterona e para a hipertensão arterial encontrada.

C. OS POLIMORFISMOS

Para além das mutações no gene do recetor dos GC, têm sido descritas na população normal, variações interindividuais na sensibilidade dos tecidos para os GC, atribuídas a polimorfismos no gene do RG.¹ Na Figura 5 encontra-se uma representação esquemática dos polimorfismos já identificados.

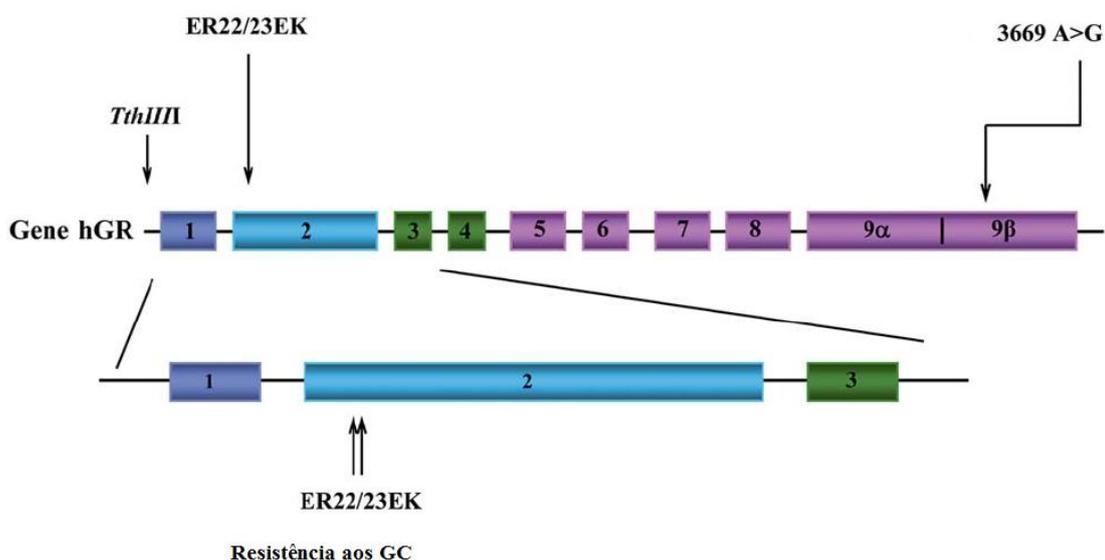


Figura 5 - Representação esquemática dos polimorfismos no gene do RG (adaptado da referência 1)

Um dos polimorfismos identificados, o ER22/23EK, no exão 2 do gene é acompanhado por uma elevação da relação entre as isoformas RGαA (94kDa) e as isoformas RGαB (91kDa)^{1,13} e está relacionado com resistência aos GC com consequente diminuição dos efeitos dos GC em vários tecidos.⁵ Resulta numa redução significativa da transcrição dos ERG comparando com o recetor normal; reduz a capacidade de transativação génica, sem alteração da capacidade de transrepressão;⁵ reduz a sensibilidade aos GC evidenciada pela concentração elevada de cortisol plasmático e pela resistência à diminuição da concentração de cortisol pelo teste de

supressão pela dexametasona; e resulta num fenótipo caracterizado por um perfil metabólico mais favorável aumentando a longevidade dos indivíduos. A presença deste polimorfismo parece conferir aos portadores um melhor perfil cardiovascular e metabólico, com maior sensibilidade à insulina, menor concentração de colesterol total e LDL e proteína C-reativa.^{1,5} Este polimorfismo está presente num número significativamente maior na população mais idosa, na qual os portadores apresentam menor risco de demência, menor número de lesões da substância branca cerebral e maior longevidade, comparando com os não portadores. Inexplicadamente apresentam níveis mais elevados de HbA1C. Na população mais jovem está associado a um padrão sexual dimórfico. Os portadores do sexo masculino são mais altos, têm mais massa muscular, enquanto as portadoras do sexo feminino são mais pequenas, têm menor perímetro abdominal e menor peso corporal.^{1,5}

Segundo Charmandari *et al*¹ e Yang N. *et al*¹³ os mecanismos moleculares através dos quais este polimorfismo se traduz nos efeitos acima descritos resultam da expressão aumentada da isoformas R α A em detrimento da isoformas R α B. Dado que a primeira isoforma tem menor atividade transcripcional, a mudança na expressão das isoformas resulta na diminuição geral da atividade transcripcional.

Na extremidade carboxiterminal do exão 9 β , que constitui o exão terminal do mRNA do isoforma β do RG, existe outro polimorfismo que consiste na substituição de nucleótidos, mas que não altera a sequência de aminoácidos. Este polimorfismo aumenta a estabilidade do mRNA do R β , tal como a sua expressão proteica com conseqüente inibição da atividade transcripcional do R α , pelo efeito dominante negativo já conhecido do R β , promovendo assim resistência aos GC.^{1,5} A presença deste alelo está relacionado com uma redução da obesidade central e um perfil lipídico mais favorável nos portadores. Para além disso este

polimorfismo aumenta a suscetibilidade a artrite reumatóide⁵ por promover um estado pró inflamatório, e de doença cardiovascular.¹

Um outro polimorfismo, identificado por Rosmond *et al*³⁷, a variante *TthIII*, encontra-se na região promotora do gene do RG. Está relacionado com o aumento da concentração plasmática diurna de cortisol. Este polimorfismo parece não alterar a sensibilidade aos GC por si próprio, mas o papel modificador da sensibilidade aos GC em combinação com outros polimorfismos não pode ser excluído, como afirma Van Rossum *et al.*⁵ Na verdade, tanto o polimorfismo ER22/23EK como o polimorfismo no exão 9 β são encontrados praticamente sempre associados a este polimorfismo, o que faz com que haja associação entre resistência aos GC e um perfil metabólico favorável nos indivíduos portadores do polimorfismo *TthIII*.¹

13. O TRATAMENTO

O objetivo do tratamento da SRGGC passa por suprimir o excesso de secreção de ACTH, suprimindo assim a produção exagerada de hormonas adrenais com função mineralocorticóide e androgénica.⁸ A terapêutica da SRGGC deve ainda ser individualmente direcionada para o tipo de sinais e sintomas do doente.

Charmanadari *et al*¹⁵ defendem que o tratamento envolve a administração de doses elevadas de um glucocorticóide sintético, sem atividade mineralocorticóide, tal como a dexametasona (1-3 mg/dia), que ativa o $RG\alpha$ mutado e/ou não mutado e suprime a secreção endógena de ACTH nos indivíduos afetados. O tratamento com uma dose de dexametasona adequada para suprimir a ACTH resulta na diminuição dos níveis de androgénios adrenais e muitas vezes normaliza os níveis de potássio plasmáticos e a tensão arterial, por normalização dos mineralocorticóides.²

Segundo os mesmos autores,¹⁵ a supressão adequada do eixo HHSR tem particular importância, em doentes cuja função do $RG\alpha$ se encontra alterada significativamente, dado que a hiperestimulação corticotrófica a longo prazo, juntamente com a diminuição do mecanismo de retrocontrolo negativo exercido pelos GC, a nível hipotalâmico e hipofisário, podem contribuir para o desenvolvimento de um adenoma secretor de ACTH. Os autores defendem ainda que o tratamento prolongado com dexametasona deve ser titulado e adequado a cada doente, de acordo com as manifestações clínicas e o perfil bioquímico.

Segundo outros autores, nomeadamente Van Rossum *et al*⁵ uma baixa dose de dexametasona, administrada à meia-noite é capaz de suprimir os níveis de ACTH matinais, mesmo que haja resistência aos GC, diminuindo a produção de androgénios e mineralocorticóides pela SR. Os autores afirmam que é aconselhável titular a dose de dexametasona administrada aos doentes, para uma concentração mínima que seja capaz de

normalizar os níveis de androgénios, a tensão arterial e a concentração plasmática de potássio. Uma vez normalizadas as concentrações de mineralocorticóides e de androgénios, a dose de dexametasona que mantém esta supressão deve ser titulada para valores mínimos. O objetivo, segundo estes autores é tratar os doentes com a menor dose possível de dexametasona, começando com 1mg à noite e diminuindo para 0,5mg ou até 0,25mg, evitando os efeitos aditivos do fármaco e mantendo a produção endógena de cortisol. Para avaliar o efeito aditivo da dexametasona, os autores defendem que se meça a DMO precocemente.

Os mesmos autores afirmam ainda que, no tratamento da hipertensão arterial, os diuréticos tiazídicos e os diuréticos de ansa devem ser evitados, devido aos seus efeitos na perda de potássio. Em contrapartida os antagonistas da aldosterona podem ser usados para controlar a tensão arterial, com benefício associado à poupança de potássio e aos efeitos anti-androgénicos.⁵

Na prática clínica os efeitos do tratamento com GC podem variar consideravelmente entre os doentes, o que pode ser parcialmente atribuído às mutações ou polimorfismos presentes no gene do RG. Desta forma, quando está presente uma variante conhecida do gene do RG, a dose de GC deve ser ajustada com o objetivo de obter um tratamento seguro e com o mínimo de efeitos adversos.

A. CASOS-EXEMPLO

Numa das primeiras mutações identificadas, em 1993, por Karl *et al* ²⁸ a diminuição da concentração do recetor dos GC era totalmente compensada pela elevação dos níveis plasmáticos de cortisol, aparentemente capazes de conseguir uma ativação adequada dos recetores, uma adequada interação com os ERG no núcleo e uma apropriada transdução de sinal. O tratamento, no doente com a mutação identificada, realizado com níveis farmacológicos

de dexametasona, foi capaz de suprimir a produção de ACTH e de androgénios, curando o doente completamente, tal como foi descrito na primeira família identificada com esta síndrome.

No caso da criança diagnosticada com SRGGC por Nader *et al*,¹⁴ e referida anteriormente, o tratamento com dexametasona utilizado para suprimir os níveis de ACTH controlou efetivamente os sintomas clínicos. O tratamento permitiu a normalização do eixo HHSR e assim conseguiu normalizar a tensão arterial, os níveis de potássio sérico, os níveis de DHEA e o UFC na urina das 24 horas. Para além disso, conseguiu atrasar o crescimento, por suprimir com eficácia o excesso de produção de androgénios (que aceleram o crescimento ósseo). A idade óssea da criança era de 12 anos, aos 9 anos e 11 meses de idade cronológica com o tratamento efetuado. Os autores sugerem então que o glucocorticóide sintético é útil para o tratamento da SRGGC, tal como acontece nos adultos.

14. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Como conclusão, existe uma enorme complexidade associada às vias de sinalização dos glucocorticóides (GC) e uma grande variedade de efeitos na transdução de sinal dos GC, associada às diferentes mutações no gene do RG e aos vários fatores que influenciam a sensibilidade aos GC.

Novos estudos relativamente aos mecanismos de ação dos GC a nível celular e molecular são de extrema importância.

A resistência dos tecidos aos GC pode ser generalizada ou específica de tecido e pode ter implicações importantes em processos biológicos críticos, como o comportamento, a resposta fisiológica ao stress, a reação inflamatória e imune, o processo do sono e outras funções básicas, como o crescimento e a reprodução.

Relativamente à resistência generalizada aos GC – SRGGC – trata-se uma condição genética rara, familiar ou esporádica, caracterizada por uma resistência ou insensibilidade aos GC nos tecidos-alvo.

O espectro clínico e a severidade desta síndrome são muito amplos e variados, desde situações completamente assintomáticas, a casos severos de hiperandrogenismo e/ou excesso de mineralocorticóides.

As bases moleculares têm sido descritas como mutações do gene que codifica o recetor dos GC (que alteram a sua atividade intrínseca) e dos mecanismos moleculares, alterando a sensibilidade dos tecidos às hormonas em causa.

Em alguns doentes, diagnosticados com SRGGC, as mutações no gene foram identificadas, mas ainda permanece desconhecida a causa de SRGGC identificada em vários outros. Provavelmente relaciona-se com defeitos em co-ativadores, co-repressores, proteínas chaperonas, estabilidade do mRNA, modificação pós translacional ou outros fatores envolvidos nas vias de sinalização do RG.

O diagnóstico permanece difícil, sendo necessários testes laboratoriais e/ou genéticos, assim como estudos familiares adicionais, para a identificação desta patologia.

Para reverter a hiperatividade do eixo HHSR o tratamento deve ser iniciado com dexametasona e individualizado às necessidades de cada doente.

A prevalência exata desta condição não é conhecida, uma vez que a determinação de UFC na urina das 24 horas ou o teste de supressão pela dexametasona por exemplo, não são normalmente realizados em doentes sem manifestações clínicas de hipercortisolismo.

Para além disso, a grande variedade de fenótipos clínicos da SRGGC, juntamente com as dificuldades encontradas em estabelecer um diagnóstico correto, podem estar relacionadas com a baixa prevalência da doença, uma vez que provavelmente muitos casos não são reconhecidos ou são mal classificados na literatura médica.

15. AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, **Mestre Isabel Paiva** e co-orientadora, **Prof^a Doutora Leonor Gomes**, do Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), pela oportunidade e o privilégio que me concederam em realizar a minha Tese na área de Endocrinologia.

Um agradecimento especial à minha orientadora, pelo apoio incondicional, a partilha do saber, o tempo despendido, a orientação e as valiosas contribuições para a realização do trabalho.

A **Dra. Helena Donato**, Diretora do Serviço de Documentação da Biblioteca do CHUC e à **Sra. Catarina Lopes**, Técnica de Referência do mesmo serviço pelo apoio na pesquisa bibliográfica e pela cedência dos artigos.

À **Joana, Daniela, Elisa e Cristina**, por partilharem comigo, Coimbra e o curso de Medicina, por passarem a fazer parte da minha caminhada e por permanecerem nela.

Ao **Daniel**, pelo apoio diário e pela transmissão de confiança e de força, em todos os momentos.

Por fim, aos **meus pais** um enorme obrigada por acreditarem sempre em mim e naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida. Espero que esta etapa, que agora termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que, constantemente, me oferecem.

16. REFERÊNCIAS

1. Charmandari, Evangelia. Primary Generalized Glucocorticoid Resistance and Hypersensitivity. *Hormone Research in Pediatrics*. 2011, 76:145-155.
2. Orbak, Z. Glucocorticoid Resistance. *Biochemistry*. 2006, Vol. 71, 10: 1073-1081.
3. De Kloet, E. Ronald, et al. Glucocorticoid Feedback Resistance. *Elsevier Science Inc*. 1997, 8: 26-33.
4. Malchoff, Carl D. e Malchoff, Diana M. Glucocorticoid Resistance and Hypersensitivity. *Endocrinology and metabolism clinics of north america*. 2005, 34: 315-326.
5. van Rossum, Elisabeth F.C. e Lamberts, Steven W.J. . Glucocorticoid resistance syndrome: a diagnostic and therapeutic approach. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006, Vol. 20, 4: 611-626.
6. Kawakubo, Akitoshi, et al. A case of Primary glucocorticoid resistance. *Nagoya J. Med.Sci*. 1995, 58: 143-147.
7. Chrousos, George P., et al. Molecular Mechanism of Glucocorticoid Resistance/Hypersensitivity - Potential Clinical Implications. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996, 154: 39-44.
8. Charmandari, Evangelia e Kino, Tomoshige. Chrousos Syndrome: A Seminal Report, a Phylogenetic Enigma and the Clinical Implications of Glucocorticoid Signaling Changes. *Eur J Clin Invest*. 2010, 40: 932-942.
9. Chrousos, P. George, D., Sevilla e Karl, Michael. Syndromes of Glucocorticoid Resistance. *Ann Intern Med*. 1993, 119: 1113-1124.
10. Faria, Cláudia D.C. e Longui, Carlos Alberto. Aspectos Moleculares da Sensibilidade aos Glucocorticóides. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 6, 2006, Vol. 50.

11. Adock, M. I., et al. Differences in binding of glucocorticoid receptor to DNA in steroid - resistant asthma. *J. Immunol.* 1995, 154: 3500-3505.
12. Jiang, T, et al. The phase-shift mutation in the glucocorticoid receptor gene: potential etiologic significance of neuroendocrine mechanisms in lupus nephritis. *Clinica Chimica Acta.* 2001, 313:113-117.
13. Yang, Nan, Ray, David W. e Matthews, Laura C. Current Concepts in glucocorticoid resistance. *Steroids.* 11, Setembro, 2012, 77; 1041–1049.
14. Nader, Nancy, et al. A novel point mutation un Helix 10 of the human glucocorticoid receptor causes generalized glucocorticoid resistance by disrupting the structure of the ligand-binding domain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010, 95 (5): 2281-2285.
15. Charmandari, Evangelia, et al. Generalized Glucocorticoid Resistance: Clinical Aspects, Molecular Mechanisms, and Implications of a Rare Genetic Disorder. *J Clinic Metab.* 2008, 93, 1563-1572.
16. Ruiz, M., et al. Further characterization of human glucocorticoid receptor mutants, R477H and G679S, associated with primary generalized glucocorticoid resistance. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* . 2013, 73: 203-207.
17. Huizenga, NA, et al. Five patients with biochemical and/or clinical generalized glucocorticoid resistance without alterations in the glucocorticoid receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000, 85(5): 2076-2081.
18. Bamberger , C M e Chrousos, G P. The glucocorticoid receptor and RU 486 in man. *Ann N Y Acad Sci* . 1995, 761: 296-310.
19. Donner, Kati M., et al. Generalized glucocorticoid resistance caused by a novel two-nucleotide deletion in thee hormone-binding domain of the glucocorticoid receptor gene NR3C1. *European Journal of Endocrinology.* 2013, 168: K9-K18.

20. MacMahon, SK., et al. Neonatal complete generalized glucocorticoid resistance and growth hormone deficiency caused by a novel homozygous mutation in hlex 12 of the ligand-binding domain of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1). *J Clin Endocrinol Metab* . 2010, 95: 297-302.
21. Mendonca, BB., et al. Female pseudohermaphroditism caused by a novel homozygous missense mutation of the GR gene. *J Clin Endocrinol Metab* . 2002, 87:1805-1809.
22. Karl, M., et al. Cushing's disease preceded by generalized glucocorticoid resistance: clinical consequences of a novel, dominant-negative glucocorticoid receptor mutation. *Proc Assoc Am Physicians*. 1996, 108:296-307.
23. Fernandes, Virginia Oliveira, et al. Tumores testiculares bilaterais por hiperplasia congênita de restos adrenais. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009, 53/8: 1052-1058.
24. Zhu, Hui Juan, et al. Generalized glucocorticoid resistance accompanied with an adrenocortical adenoma and caused by a novel point mutation of human glucocorticoid receptor gene. *Chinese Medical Journal* . 2011, 124 (4): 551-555.
25. Roberts, M., et al. A novel point mutation in the DNA-binding domain (DBD) of the human glucocorticoid receptor causes primary generalized glucocorticoid resistance by disrupting the hydrophobic structure of its DBD. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013, 98(4): E790-E795.
26. Chrousos, George P., et al. Primary cortisol resistance in man. A glucocorticoid receptor-mediated disease. *J Clin Invest*. 1982, 69: 1261-1269.
27. Hurley, DM, et al. Point mutation causing a single amino acid substitution in the hormone binding domain of the glucocorticoid receptor in familial glucocorticoid resistance. *J Clin Invest*. 1991, 87: 680-686.
28. Karl, M., et al. Familial glucocorticoid resistance caused by a splice site deletion in the human glucocorticoid receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* . 1993 , 76: 683-689.

29. Malchoff, DM., et al. A mutation of the glucocorticoid receptor in primary cortisol resistance . *J Clin Invest* . 1993, 91: 1918-1925.
30. Kino, T., et al. Pathologic human GR mutant has a transdominant negative effect on the wild-type GR by inhibiting its translocation into the nucleus:importance of the ligand-binding domain for intracelular GR trafficking. *J Clin Endocrinol Metab* . 2001, 86: 5600-5608.
31. Ruiz, M., et al. Characterization of two novel mutations in the glucocorticoid receptor gene in patients with primary cortisol resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001, 55: 363-371.
32. Charmandari, E., et al. Funtional characterization of the natural human glucocorticoid receptor (hGR) mutants hGRalphaR477H and hGRalphaG679S associated with generalized glucocorticoid resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 , 91: 1535-1543.
33. Vottero, A., et al. A novel, C-terminal dominant negative mutation of the GR causes familial glucocorticoid resistance through abnormal interactions with p160 steroid receptor coactivators. *J Clin Endocrinol Metab* . 2002, 87:2658-2667.
34. Charmandari, E., et al. A novel point mutation in the ligand-binding domain (LBD) of the human glucocorticoid receptor (hGR) causing generalized glucocorticoid resistance: the importance of the C terminus of hGR LBD in conferring transactivational activity. *L Clin Endocrinol Metab* . 2005, 90: 3696-3705.
35. Charmandari, E., et al. *A novel point mutation in Helix 11 of the ligand-binding domain of the human glucocorticoid receptor gene causing generalized glucocorticoid resistance*. Boston, Massachusetts, USA : Poster presentation at the 88th Endocrine Society Annual Meeting, 2006.
36. Trebble, P., et al. Flamilial glucocorticoid resistance caused by a novel frameshift glucocorticoid receptor mutation . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* . 2010, 95(E490-E499).

37. Rosmond, R, Changnon, Y C e Changnon, M et al. A polymorphism of the 5'flanking region of the glucocorticoid receptor gene locus is associated with basal cortisol secretion in men. *Metabolism*. 2000, 49:1197-1199.
38. Kino, T e Chrousos, G P. Glucocorticoid and mineralocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *Journal of Endocrinology*. 2001, 169: 437-445.
39. Charmandari, E. e Kino, T. Novel causes of generalized glucocorticoid resistance. *Horm Metab Res*. 2007, 39: 445-450.
40. Kino, Tomoshige, et al. Tissue glucocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2003, 85: 457:467.

ANEXOS

Mutações no gene do RG que causam SRGGC (modificado das referências 2, 8, 13 e 39)

Autor (ano)	Posição da Mutação		Mecanismo Molecular	Genótipo/ Transmissão	Fenótipo
	cDNA	Aminoácido			
Chrousos <i>et al.</i> (1982) ²⁶ Hurley <i>et al.</i> (1991) ²⁷	1922 (A→T)	641 (D→V)	Transativação ↓ Afinidade para ligando ↓ (3x) Translocação nuclear: 22 min Interação anormal com GRIP1	Homozigotia/ Autossómica recessiva	Hipertensão Alcalose hipocaliémica
Karl <i>et al.</i> (1993) ²⁸	Deleção de 4 pb no exão-intrão 6		50 % do número de RG α Inativação do alelo afetado	Heterozigotia/ Autossómica dominante	Hirsutismo Masculino – alopecia Irregularidades menstruais
Malchoff <i>et al.</i> (1993) ²⁹	2185 (G→A)	729 (V→I)	Transativação ↓ Afinidade para ligando ↓ (2x) Translocação nuclear: 120 min Interação anormal com GRIP1	Homozigotia/ Autossómica recessiva	Puberdade precoce Hiperandrogenismo
Karl <i>et al.</i> (1996) ²² Kino <i>et al.</i> (2001) ³⁰	1676 (T→A)	559 (I→N)	Transativação ↓ Diminuição dos locais de ligação ao RG Translocação nuclear: 180 min Interação anormal com GRIP1 Transdominância (+) – efeito dominante negativo	Heterozigotia/ Esporádica	Hipertensão Oligospermia Infertilidade
Ruiz <i>et al.</i> (2001) ³¹ Charmandari <i>et al.</i> (2006) ³²	1430 (G→A)*	477 (R→H)	Transativação ↓ Ligação ao DNA ausente Translocação nuclear: 20 min	Heterozigotia/ Esporádica	Hirsutismo Obesidade Fadiga Hipertensão
Ruiz <i>et al.</i> (2001) ³¹ Charmandari <i>et al.</i> (2006) ³²	2035 (G→A)*	679 (G→S)	Transativação ↓ Afinidade para ligando ↓ (2x) Translocação nuclear: 30 min Interação anormal com GRIP1	Heterozigotia/ Esporádica	Hirsutismo Fadiga Hipertensão

* Estas mutações foram melhor caracterizadas em 2013 por Ruiz *et al.*¹⁶

Mutações no gene do RG que causam SRGGC (modificado das referências 2, 8, 13 e 39) (continuação)

Autor (ano)	Posição da Mutação		Mecanismo Molecular	Genótipo	Fenótipo
	cDNA	Aminoácido			
Mendonça <i>et al.</i> (2002) ²¹	1712 (T→C)	571 (V→A)	Transativação ↓ Afinidade para ligando ↓ (6x) Translocação nuclear: 25 min Interação anormal com GR1P1	Homozigotia/ Autossómica recessiva	Ambiguidade sexual Hipertensão Hipocaliémia Hiperandrogenismo
Vottero <i>et al.</i> (2002) ³³	2241 (T→G)	747 (I→M)	Transativação ↓ Transdominância (+) Afinidade para ligando ↓ (2x) Translocação nuclear ↓ Interação anormal com GR1P1	Heterozigotia/ Autossómica dominante	Acne quístico Hirsutismo Oligo-amenorreia
Charmandari <i>et al.</i> (2005) ³⁴	2318 (T→C)	773 (L→P)	Transativação ↓ Transdominância (+) Afinidade para ligando ↓ (2,6x) Translocação nuclear: 30 min Interação anormal com GR1P1	Heterozigotia	Fadiga Ansiedade Acne Hirsutismo
Charmandari <i>et al.</i> (2006) ³⁵	2209 (T→C)	737 (F→L)	Transativação ↓ Transdominância (+) Afinidade para ligando ↓ (1,5x) Translocação nuclear: 180 min	Heterozigotia	Hipertensão Hipocaliémia
McMahon <i>et al.</i> (2010) ²⁰	Deleção de 2 pb (TG) nos nucleótidos 2318-19	773	Transativação ↓ Afinidade para o ligando: ausente	Homozigotia	Hipoglicémia Fatigabilidade com a alimentação Hipertensão

Mutações no gene do RG que causam SRGGC (modificado das referências 2, 8, 13 e 39) (continuação)

Autor (ano)	Posição da Mutação		Mecanismo Molecular	Genótipo	Fenótipo
	cDNA	Aminoácido			
Nader <i>et al.</i> (2010) ¹⁴	2141 (G→A)	714 (R→Q)	Transativação ↓ Transdominância (+) Afinidade para ligando ↓ (2x) Translocação nuclear ↓ Interação anormal com GRIP1	Heterozigotia	Hipoglicémia Hipocaliémia Hipertensão Clitoromegália ligeira Idade óssea avançada Puberdade precoce
ZHU <i>et al.</i> (2011) ²⁴	1667 (C→T)	556 (T→I)	Ainda em estudo	Heterozigotia	Assintomático Incidentaloma da SR
Trebble <i>et al.</i> (2010) ³⁶	Deleção de um nucleótido (A) no exão 6	612	Transativação ↓	Heterozigotia	Fadiga Hirsutismo
Donner <i>et al.</i> (2013) ¹⁹	Deleção de 2 pb no exão 9α 2317-2318	773 (L→V)	Transativação ↓ Afinidade para ligando ↓ Sem efeito dominante negativo	Heterozigotia	Hipertensão arterial Baixa renina plasmática Aldosterona baixa
Ruiz <i>et al.</i> (2013) ¹⁶	1430 (G→A)	477 (R→H)	Capacidade de ligação aos ERG ↓ Efeito dominante negativo na atividade transcricional do RG	Heterozigotia/ Esporádica	Hirsutismo Fadiga Hipertensão Obesidade

Mutações no gene do RG que causam SRGGC (modificado das referências 2, 8, 13 e 39) (continuação)

Autor (ano)	Posição da Mutação		Mecanismo Molecular	Genótipo	Fenótipo
	cDNA	Aminoácido			
Ruiz <i>et al</i> (2013) ¹⁶	2035 (G→A)	679 (G→S)	Capacidade de ligação aos ERG não estudada Efeito dominante negativo na atividade transcricional do RG	Heterozigotia/ Esporádica	Hirsutismo Fadiga Hipertensão
Roberts <i>et al</i> (2013) ²⁵		423 (V→A)	Afinidade pelo DNA (ERG) ↓ (72%) Tempo de translocação nuclear ↑ (2,6x): 35 min Sem efeito dominante negativo Afinidade normal para o ligando e para o GRIP1	Heterozigotia	