

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Jelica D. Bjekić Macut

**UTICAJ PROMENE REAKTIVNOSTI  
HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNE  
OSOVINE NA ISHOD KOD BOLESNIKA SA  
SYSTEMSKIM INFLAMATORNIM  
ODGOVOROM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
MEDICAL FACULTY

Jelica D. Bjekić Macut

**INFLUENCE OF THE CHANGE OF THE  
HYPOTHALAMO-PITUITARY-ADRENAL  
AXIS REACTIVITY ON THE OUTCOME IN  
PATIENTS WITH SYSTEMIC  
INFLAMMATORY RESPONSE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

**Mentor:** Prof dr sci Miloš Žarković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

**Članovi komisije:**

1. Prof dr sci Nebojša Lalić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof dr sci Svetlana Vujović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof dr sci Svetlana Ignjatović, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

**Datum odbrane:**

Uticaj promene reaktivnost hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na ishod  
kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom

**Uvod:** Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) predstavlja inflamatorno stanje uzrokovano infekcijom ili sepsom i koje se širi na ceo organizam. SIRS se smatra delom „citokinske oluje“ i manifestuje se disregulacijom različitih citokina. Ozbiljnost bolesti se najbolje prediktuje korišćenjem APACHE II skora (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) dok se ishod kod pacijenta, odnosno organska disfunkcija ili insuficijencija prediktuje pomoću SOFA skora (Sequential Organ Failure Assessment). SIRS dovodi do značajnih promena u dinamici kortizola ukazujući na disocijaciju između adrenalnog korteksa i hipotalamo-hipofizne jedinice. Navedena promena se manifestuje visokim koncentracijama kortizola i ACTH odmah nakon početka SIRS-a. Međutim, nekoliko dana kasnije, ACTH se spušta do veoma niskih koncentracija dok koncentracije kortizola ostaju visoke. Navedeno se objašnjava direktnim efektom citokina, kao što je interleukin 6 (IL-6), na koru nadbubrega koji stimulišu oslobađanje glukokortikoida. Odgovor kortizola na stimulaciju sa ACTH predstavlja važan prediktor ishoda kod kritično bolesnih. Bolesnici sa neadekvatnim odgovorom kortizola na stimulaciju sa ACTH imaju visoku stopu mortaliteta. Stimulacija sa 250 µg ACTH se smatra zlatnim standardom u proceni adrenalne funkcije. Međutim, niskodozni test sa 1 µg ACTH (NDT) predstavlja senzitivniji test u detekciji specifičnih formi adrenalne insuficijencije kao što je hipotalamo-hipofizna

disfunkcija. Upotreba NDT u kritično obolelih nije jasno definisana jer postoji mali broj podataka za formiranje jasne preporuke.

Cilj ovog istraživanja je da se proceni odnos koncentracije inflamatornih citokina, ACTH i odgovora nadbubrega na stimulaciju sa sintetskim ACTH u bolesnika sa SIRS-om na prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu (RIJ) i posle sedam dana, i odredi odnos između navedenih parametara i mortaliteta.

**Materijal i metode:** Pedesetčetiri osobe su bile uključene u studiju. SIRS je definisan prema kriterijumima iz 1992. godine. Ozbiljnost bolesti je određena pomoću APACHE II skora, a organska disfunkcija pomoću SOFA skora. Kod svih bolesnika su na prijemu u RIJ i posle 7 dana, određivane koncentracije IL-6, IL-13 i IL-18, i učinjen niskodozni ACTH test sa 1 µg uz određivanje kortizola. Podaci su analizirani korišćenjem parametarskih i neparametarskih testova, i regresione analize, a rezultati predstavljani kao srednja vrednost ± standardna devijacija. Statistički značajnom su smatrane vrednosti  $P < 0.05$ .

**Rezultati:** Kod svih bolesnika je potvrđeno postojanje respiratorne infekcije. Od 54 bolesnika, 5 (9.6%) je umrlo unutar 7 dana od početka SIRS-a i lečenja u RIJ. Bazalne koncentracije ACTH se nisu razlikovale u vreme prijema u RIJ i na kontroli posle 7 dana. Bazalne koncentracije kortizola, i vrednosti kortizola tokom niskodoznog ACTH testa nisu se razlikovale u navedene dve tačke tokom praćenja. Porast kortizola manja od 250 nmol/L tokom NDT je nađena kod 14 od 54 bolesnika (25.9%) na početku SIRS-a. Na prijemu u RIJ, dobijena je značajna pozitivna korelacija između bazne vrednosti kortizola i: APACHE II skora, SOFA skora i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa. Značajna

korelacija je dobijena između IL-6 i: bazne vrednosti kortizola, APACHE II skora i SOFA skora. Nedelju dana po prijemu u RIJ, dobijene su značajne korelacije između bazne vrednosti kortizola i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa, i IL-6 i IL-13. Ženski pol i maksimalni odgovor kortizola ( $\Delta$  max) tokom NDT prediktovao je trajanje hospitalizacije u RIJ dok su APACHE II i SOFA skorovi bili najbolji prediktori trajanja hospitalizacije, mortaliteta i ukupnog preživljavanja. Koncentracija IL-6 na prijemu u RIJ prediktovala je primenu aparata za veštačku ventilaciju kod obolelog. Pokazano je da maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 pri prijemu u RIJ i nivoa ACTH.

**Zaključci:** Pokazana je razlika maksimalnog odgovora kortizola ( $\Delta$  max) između dva NDT sprovedena pri dijagnozi SIRS i posle 7 dana.  $\Delta$  max i klinički skorovi prediktuju ishod hospitalizacije u RIJ dok klinički skorovi uspešno prediktuju i ukupno preživaljavanje. NDT predstavlja osetljiv test za otkrivanje specifičnih formi adrenalne insuficijencije koja može nastati sa stanjem SIRS-a. Na početku SIRS-a koncentracija IL-6 je značajno korelirala sa koncentracijom baznog kortizola i oba klinička skora. Maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 pri prijemu u RIJ i nivoa ACTH.

**Ključne reči:** kortizol; sindrom sistemskog inflamatornog odgovora; ACTH test; APACHE II; SOFA

**Naučna oblast:** endokrinologija

Influence of change of reactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis on outcome in patients with systemic inflammatory response

**Introduction:** Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) represents inflammatory condition caused by infection or sepsis that spreads all over the body. SIRS is considered a part of the „cytokine storm“ and is manifested by dysregulation of different cytokines. The severity of the disease is best predicted using Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) score while the patient's outcome, namely organ dysfunction/failure during Intensive Care Unit (ICU) monitoring is predicted using Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score. SIRS leads to significant changes in cortisol dynamics indicating on the dissociation between adrenal cortex and the hypothalamo-pituitary unit. This is manifested by the very high concentrations of cortisol and ACTH immediately after commencement of SIRS. However, a few days later ACTH falls to the very low concentration while the concentrations of cortisol remains high. This is explained by direct effect of cytokines, as it is interleukin 6 (IL-6), on the adrenal cortex that is stimulating glucocorticoid release. Cortisol response on the stimulation with ACTH was shown to be important predictor of the outcome in critically ill patients. Patients with inadequate cortisol response on stimulation with ACTH had high mortality rate. Stimulation with 250 µg of ACTH is considered to be gold standard test for the assessment of adrenal function. However, the low-dose (1 µg) test (LDT) represents a more sensitive test for detecting specific forms of adrenal insufficiency as it is hypothalamo-pituitary

disfunction. The use of LDT in critically ill patients is not clearly defined as the data on LDT are limited and not sufficient for the clear recommendation.

The aim of this study was to assess the cortisol response after the stimulation of synthetic ACTH in patients with SIRS at the admission to the Respiratory Intensive Care Unit (RICU) and seven days later, and to assess the relation between these parameters and mortality.

**Material and methods:** Fifty-four subjects were included in the study, and SIRS defined according to the criteria from 1992. Severity of the disease was determined using APACHE II score, and organ dysfunction using SOFA score. In all patients basal concentrations of ACTH, IL-6, IL-13, IL-18 were determined. Low dose ACTH test with 1  $\mu$ g and determination of cortisol was performed at the admission to RICU and seven days later. Data were analyzed using parametric and non-parametric tests, regression analyzes, and results presented as mean $\pm$ standard deviation.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

**Results:** In all patients respiratory infection was confirmed. Five out of 54 (9.6%) patients died within the 7 days from the onset of SIRS and treatment in RICU. There were no differences in basal ACTH values, as well as in cortisol values between two LDT. Cortisol increment lower than 250 nmol/L during LDT was found in 14/54 (25.9%) subjects at the onset of SIRS. At the admission to RICU, significant positive correlation was found between basal cortisol and APACHE II score, SOFA score, and maximal cortisol concentrations during ACTH test, respectively. Significant correlation was found between IL-6 and basal cortisol concentrations, APACHE II score and SOFA score, respectively.



After one week in RICU, significant correlation was found between basal cortisol concentrations and maximal cortisol concentration during ACTH test, IL-6 and IL-13, respectively. Female sex and maximal cortisol concentration during LDT predicted duration of hospitalization in RICU, while APACHE II and SOFA scores best predicted the duration of hospitalization, mortality outcome as well the overall survival. IL-6 concentration at the admission to RICU predicted the use of mechanical ventilation. It was shown that maximal cortisol response depends on interaction of IL-6 and ACTH concentration at the admission to RICU.

**Conclusions:** The difference of the maximal cortisol response ( $\Delta$  max) between two LDT performed at the diagnosis of SIRS and seven days later was shown.  $\Delta$  max, and clinical scores APACHE II and SOFA, predicted clinical outcome of hospitalization in RICU, while clinical scores successfully predicted overall survival outcome as well. LDT represent sensitive test for detecting specific forms of adrenal insufficiency as it could be induced by the state of SIRS. At the onset of SIRS concentrations of IL-6 significantly correlated with basal cortisol concentrations and both clinical scores. Maximal cortisol response depends on interaction of IL-6 and ACTH concentration at the admission to RICU.

**Key words:** cortisol; systemic inflammatory response syndrome; ACTH test; APACHE II; SOFA

**Scientific area:** endocrinology

# Sadržaj

<b>1. Uvod</b> .....	1
1.1. Definicija sindroma sistemskog inflamatornog odgovora .....	1
1.1.1. Novi koncept definicije sindroma sistemskog inflamatornog odgovora .....	6
1.1.2. Klinički indikatori za procenu statusa pacijenta – vrednost skorova .....	7
1.2. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina .....	7
1.2.1. Regulacija hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	8
1.2.1.1. Kora nadbubrega .....	8
1.2.1.2. Kortikotrofne ćelije hipofize .....	9
1.2.1.3. Neuron koji proizvodi ACTH oslobađajući faktor .....	10
1.2.1.4. Povratna sprega hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	11
1.3. Cirkadijalna hipotalamo-hipofizno-adrenalna aktivnost .....	13
1.3.1. Centralna kontrola cirkadijalnog ritma hipotalamo-hipofizno- adrenalne aktivnosti .....	14
1.3.2. Glukokortikoidima posredovana kontrola cirkadijalnog ritma hipotalamo-hipofizno-adrenalne aktivnosti .....	14
1.3.3. Patofiziologija oštećene cirkadijalne aktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	15
1.4. Efekti stresa na funkciju hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	17
1.4.1. Uticaj stresa na faktore koji stimulišu lučenje kortikotropina .....	18
1.4.2. Regulacija odgovora hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine	

na stres mehanizmom povratne sprege .....	18
1.4.3. Uticaj hroničnog stresa .....	19
1.5. Citokini kao regulatori aktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	20
1.6. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina tokom teške bolesti .....	21
1.6.1. Normalna fiziologija hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine .....	22
1.6.2. Promene u funkciji hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti .....	23
1.6.3. Kratkotrajni stres vs. dugotrajna teška bolest .....	25
1.7. Modulirajući faktori i ograničenja raspoloživih metoda za procenu hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti .....	26
1.7.1. Odnos ukupnog i slobodnog kortizola .....	27
1.7.2. Određivanje serumske koncentracije kortizola .....	28
1.7.3. Standardni testovi za procenu hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti .....	29
1.7.4. Uticaj lekova .....	33
1.7.5. Vrsta i težina bolesti .....	34
1.7.6. Hronicitet teške bolesti i uticaj na hipotalamo-hipofizno-adrenalnu osovinu .....	35
1.8. Alternativni pristupi u proceni adrenalne funkcije .....	36
1.8.1. Koncentracija slobodnog serumskog kortizola .....	36
1.8.2. Koncentracija salivarnog kortizola .....	37
1.8.3. Koncentracije drugih ACTH zavisnih adrenalnih steroida: DHEA i DHEA-S .....	37

1.8.4.	Definisanje normalne adrenalne funkcije tokom teške bolesti .....	38
1.9.	Koncept relativne adrenalne insuficijencije .....	39
1.10.	Citokini u sindromu sistemskog inflamatornog odgovora .....	40
1.10.1.	Mehanizmi oslobađanja citokina .....	41
1.10.1.1.	Endotoksin / Lipopolisaharid .....	41
1.10.1.2.	Sistem komplementa .....	42
1.10.1.3.	Oštećenje nastalo procesom ishemija-reperfuzija .....	42
1.10.1.4.	Uloga oksidativnog stresa .....	43
1.10.2.	Proinflamatorni citokini .....	43
1.10.2.1.	Faktor tumorske nekroze $\alpha$ .....	44
1.10.2.2.	Interleukin-1 .....	45
1.10.2.3.	Interleukin-6 .....	45
1.10.3.	Antiinflamatorni citokini .....	45
1.10.3.1.	Interleukin-10 .....	46
1.10.3.2.	Interleukin 13 .....	46
1.10.4.	Molekularni mehanizmi oslobađanja citokina u SIRS-u.....	47
1.11.	Primena glukokortikoida u terapijske svrhe tokom teške bolesti .....	47
<b>2.</b>	<b>Ciljevi istraživanja</b> .....	<b>50</b>
<b>3.</b>	<b>Materijal i metode</b> .....	<b>51</b>
3.1.	Studijska grupa ispitanika .....	51
3.2.	Sakupljanje kliničkih podataka .....	52
3.2.1.	Klinička procena .....	52
3.2.2.	Laboratorijski pokazatelji .....	53

3.2.3. Sprovođenje ACTH testa .....	53
3.2.4. Eseji .....	54
3.3. Statistička analiza .....	55
<b>4. Rezultati .....</b>	<b>57</b>
4.1. Kliničke karakteristike studijske grupe .....	57
4.2. Praćeni biokemijski i hormonski pokazatelji .....	57
4.3. Analiza prediktora ishoda .....	61
<b>5. Diskusija .....</b>	<b>65</b>
<b>6. Zaključci .....</b>	<b>76</b>
<b>7. Literatura .....</b>	<b>78</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Definicija sindroma sistemskog inflamatornog odgovora

Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (*engl. systemic inflammatory response syndrome, SIRS*) predstavlja složen patofiziološki odgovor organizma na oštećenja koja nastaju pod dejstvom infekcije, traume, opekotina, pankreatitisa i brojnih drugih oštećenja. Navedeni koncept SIRS-a je nastao 1991. godine na Konsenzus konferenciji o sepsi organizovanoj od strane Američkog koledža grudnih lekara (*engl. American College Chest Physicians, AACP*) i Udruženja intenzivne medicine (*engl. Society of Critical Care Medicine, SCCM*) [1]. Učesnici konferencije su definisali skup kliničkih parametara koji bi pomogao u ranom prepoznavanju osoba sa sepsom i odabiru potencijalnih kandidata koji bi ušli u klinička ispitivanja inovativnih strategija lečenja sepse. Ukazano je na nedoumice i nejasnoće dotadašnje kliničke definicije sepse koja je korišćena u kliničkoj praksi i kod dizajniranja kliničkih istraživanja [1-3].

Pre 1992. godine dijagnoza sepse je zahtevala postojanje pozitivne hemokulture ili dokumentovanu infekcije, a često i postojanje šoknog staja praćenog hipotenzijom. Smatralo se da iskusni kliničari mogu lako da prepoznaju sepsu zbog čega se nije insistiralo na postojanju formalne dijagnoze [2]. Zbog postojanja različitih pristupa u definisanju, bilo je teško odrediti pravu incidencu i prevalencu sepse, a takođe nije bilo moguće sprovođenje meta analiza obzirom na nedostatak uniformnosti u definiciji.

Jedan od najčešćih i najozbiljnijih problema sa kojim se kliničari susreću je lečenje infekcije kao i sistemski odgovor koji nastaje kao njena posledica. Procenjuje se da u Sjedinjenim američkim državama (SAD) bakterijemiju razvije 100000 do 300000 pacijenata godišnje dok se šok kao komplikacija sepse javlja kod gotovo 50% od navedenog broja obolelih uz stopu mortaliteta od 40-60% [4]. Još je Hipokrat primetio kliničke karakteristike koje se javljaju tokom sepse i zabeležio da je „hladnoća ekstremiteta u akutnoj bolesti veoma loš znak“. Sepsa je i dalje veliki klinički problem u hirurgiji, kako u jedinicama intenzivne nege tako i van nje. Incidenca sepse se u poslednjih 60 godina povećala i najčešći je uzrok smrti među teško obolelim u jedinicama intenzivne nege u SAD i Evropi. I pored velikog napretka u razumevanju patofizioloških mehanizama sepse, terminologija koja se koristi u ovom polju istraživanja je prilično zbunjujuća. U cilju jasnijeg definisanja sepse, avgusta 1991. godine na konsenzus konferenciji Američkog koledža grudnih lekara i Udruženja intenzivne medicine doneta je univerzalna definicija SIRS-a, sepse i drugih kliničkih stanja povezanih sa sepsom [1]. SIRS se odnosi na klinički odgovor koji nastaje kao posledica delovanja nespecifičnog oštećenja i obuhvata dve ili više definisanih varijabli (Tabela 1). Sepsa se definiše kao SIRS sa dokazanom infekcijom. Posledica sepse / SIRS-a je sindrom multiplog popuštanja organa (MODS) koji se definiše kao nemogućnost održavanja homeostaze bez adekvatne intervencije. Primarni MODS je direktna posledica jasno definisanog oštećenja, dok sekundarni MODS nastaje kao posledica odgovora organizma na oštećenje. MODS se javlja kao posledica SIRS-a. Iako skoro svi pacijeti sa sepsom razviju disfunkciju jednog organskog sistema, MODS nastaje u oko 30%

pacijenta sa sepsom. MODS se može javiti i kod preko 30% pacijenta sa traumom, 24% pacijenta sa akutnim pankreatitisom i skoro 40% pacijenta sa opekotinama [5].

Tabela 1. Kriterijumi za sindrom sistemskog inflamatornog odgovora, sepse i sindroma multiple organske disfunkcije [1]

<b>SIRS</b>	Sistemski inflamatorni odgovor se karakteriše kliničkim odgovorom koji se manifestuje sa dve od sledećih karaktirisa:
	Temperatura preko 38°C ili ispod 36°C (rektalna)
	Srčana frekvencija preko 90 otkucaja u minuti
	Preko 20 respiracija u minuti ili PaCO <sub>2</sub> manja od 4.3 kPa
	Broj leukocita preko 12000 ćelija po mm <sup>3</sup> , ispod 4000 ćelija po mm <sup>3</sup> ili 10% nezrelih formi
<b>Sepsa</b>	SIRS sa potvrđenom infekcijom
<b>Ozbiljna sepsa</b>	SIRS sa potvrđenom infekcijom i hemodinamskom kompromitovanošću
<b>MODS</b>	Stanje fiziološkog poremećaja u kojoj organska funkcija ne može da održi homeostazu

Od nastanka SIRS-a do pojave sepse i progresije ka septičkom šoku i MODS-u postoji kontinuum događaja. U prospektivnom istraživanju koje se odnosilo na prijeme u ustanove tercijarnog nivoa u SAD, 68% bolesnika je ispunilo kriterijum za postojanje SIRS-a [6]. Od navedenih bolesnika sa SIRS-om, 26% je razvilo sepsu, 18% tešku sepsu, a



4% septički šok u toku narednih 28 dana. Vremenski interval od identifikacije SIRS-a do razvoja sepse je obrnuto korelirao sa brojem prisutnih kriterijuma za postojanje SIRS-a (dva, tri ili četiri). Stopa mortaliteta je iznosila 7% za SIRS, 16% za sepsu, 20% za tešku sepsu i 46% za septički šok. Slični podaci su dobijeni u italijanskoj SEPSIS studiji [7]. Važno je napomenuti da identifikacija SIRS-a kod pacijenta u jedinicama intenzivne nege ima nisku specifičnost u predviđanju daljeg razvoja sepse ili septičkog šoka [8]. Međutim, postoji rastuća incidenca pojave otkazivanja organa i sistema kako bolest napreduje od SIRS-a ka septičkom šoku. U drugoj studiji je pokazano da upotreba SIRS kriterijuma kod pacijenta sa traumom nije pouzdana u cilju predviđanja nastanka MODS-a ili infekcije [9].

Veliki napredak na polju biotehnologije uz bolje razumevanje složenih patofizioloških procesa odgovornih za nastanak sepse, doveli su stvaranja velikog broja novih molekula dizajniranih da inhibiraju, vežu, blokiraju ili neutrališu različite medijatore za koje se smatralo da su odgovorni za nastanak brojnih događaja koji dovode do različitih kliničkih manifestacija i disfunkcije organa, a koji se viđaju kod pacijenta sa sepsom [10,11]. Očekivalo se da će primena novih strategija lečenja kao što su antagonisti medijatora, receptorski blokatori i antiinflamatorni molekuli, poboljšati preživljavanje i smanjiti morbiditet teško obolelih pacijenat sa infekcijom [10,11]. Brojni istraživači su uvideli potrebu što ranijeg prekidanja inflamatornih puteva kako bi se postigao uspeh u lečenju. Stoga je bilo neophodno pronaći način da se pacijenti sa sepsom prepoznaju što je ranije moguće, a što je i predstavljao glavni cilj pomenute konsenzus konferencije [1].

Činjenica da je sistemski inflamatorni odgovor na infekciju ili sepsu veoma sličan sistemskom inflamatornom odgovoru koji nastaje u slučaju opekotina, traume, pankreatitisa

i drugih oštećenja, usmerava pažnju ka razvoju efikasnih strategija koje će ograničiti preterani inflamatorni odgovor i poboljšati ishod bolesti [1,10,11]. Pronalaženje različitih proinflamatornih medijatora kao što su endotoksin, citokini i metaboliti arahidonske kiseline, uz činjenicu da njihova parenteralna primena kod eksperimentalnih životinja i ljudi može dovesti do kliničkog sindroma koji liči na sepsu, podstaklo pronalaženje specifičnih molekula koji će inhibirati, blokirati, neutralisati ili ograničiti potencijalno destruktivni efekat navedenih medijatora [12-15]. Kako su se vremenom pronalazili novi molekuli koje je trebalo ispitati u kliničkim studijama, javila se potreba prepoznavanja pacijenta koji će najverovatnije imati koristi od njihove primene. Potreba za pronalaženjem dijagnostičkog metoda sa prihvatljivim stepenom sigurnosti u prepoznavanju relativno homogene populacije pacijenata sa mogućom sepsom koji bi imali korist od primene antiinflamatornih molekula podstakla je potrebu za postojanje kliničke definicije sepse koja ne zahteva sofisticirane i dugotrajne testove, i koja bi se mogla koristiti u svim bolnicama širom sveta [1].

Uprkos činjenici da kriterijumima uključenim u definicije sepse i SIRS-a nedostaje specifičnost, definicija je široko prihvaćena i koristi se u velikom broju prospektivnih, kontrolisanih kliničkih studija dizajniranih radi procene novih terapijskih modaliteta u lečenju pacijenta sa teškom sepsom i / ili SIRS-om [10,11,16]. Komponente SIRS-a su korišćene kao kriterijum za uključenje u prospektivnu, randomizovanu, duplo slepu kliničku studiju kojom se procenjivao efekat primene visokih doza kortikosteroida kod pacijenta sa teškom sepsom i septičkim šokom [17]. Ovim kriterijumima je obuhvaćena populacija pacijenata koji su klinički bili slični pacijentima sa dijagnozom sepse i poznatim

uzrokom infekcije. Pacijenti bez infekcije koji su zadovoljili kriterijume za uključanje u studiju se nisu mogli razlikovati od onih sa sepsom pri čemu je nastao termin „septički sindrom“ sa definisanom stopom mortaliteta zasnovnoj na kliničkim posledicama nezavisno da li je reč o gram pozitivnoj, gram negativnoj ili neprepoznatoj infekciji [18]. Pokazano je da je su neohodna 2 od 4 kriterijuma za definisanje sepse kako bi se postigla senzitivnost definicije. Treba napomenuti da pacijenti sa sepsom koji se leče u jedinicama intenzivne nege imaju tešku sepsu (sepsu sa disfunkcijom organa) i najčešće imaju septički šok ili tešku sepsu sa MODS-om [1].

### **1.1.1. Novi koncept definicije sindroma sistemskog inflamatornog odgovora**

U prilog predložene definicije govori i istraživanje sa Univerziteta u Ajovi kojim je ukazano na povezanost povećanog stepena mortaliteta sa većim brojem kriterijuma za SIRS, kao i povećanje stepena mortaliteta kako je bolest progredirala od sepse ka teškoj sepsi i konačno septičkom šoku [6]. Dodatna potvrda o adekvatnosti definicije sepse i SIRS-a je potvrđena na Drugoj internacionalnoj konsenzus konferenciji o definisanju sepse održanoj 2001. godine u Vašingtonu, na kojoj su učestvovali predstavnici Udruženja urgentne medicine, Evropskog udruženja intenzivne medicine, Američkog koledža grudnih lekara, Američkog udruženja grudnih hirurga i Udruženja za hirurške infekcije, sa ciljem poboljšanja specifičnosti definicije donete 1991. godine. Na konferenciji iz 2001. godine je predložen dodatni kriterijum kako bi se poboljšala sposobnost kliničara da prepoznaju pacijenta sa sepsom, ali je i potvrđena iskoristljivost kriterijuma za SIRS kao glavnih komponenti za dijagnozu sepse. Istovremeno je predložen i koncept, slično kao u

onkologiji, za stažiranje sepse koristeći PIRO akronim [predispozicija, infekcija ili povreda, odgovor (response) i disfunkcija organa (organ dysfunction)] [19].

### **1.1.2. Klinički indikatori za procenu statusa pacijenta – vrednost skorova**

Kod procene kliničkog statusa pacijenta danas se najšire koristi APACHE II skor (*engl. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) [20] i SOFA skor (*engl. Sepsis-related Organ Failure Assessment*) [21]. APACHE II predstavlja skor izražen u poenima od 0 do 71 koji se izračunava iz 12 rutinskih fizioloških merenja kao što su arterijski krvni pritisak, telesna temperatura, srčana frekvencija i broj respiracija, koncentracije pojedinih elektrolita u serumu i parametara krvne slike. Viši skor podrazumeva ozbiljnije oboljenje i viši rizik od smrtnog ishoda. SOFA skor se koristi u praćenju bolesnikovog statusa tokom boravka u intenzivnoj nezi, a zasniva se na šest različitih skorova koji se odnose na koagulaciju, funkciju respiratornog, kardiovaskularnog, hepatičkog, bubrežnog i neurološkog sistema.

## **1.2. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina**

Hipotalamo-hipofizno-adrenalna (HHA) osovina predstavlja neuroendokrini sistem preko koga centralni nervni sistem kontroliše sekreciju glukokortikoida iz nadbubrežnih žlezda. Glukokortikoidi ispoljavaju različite efekte na perifernim tkivima, i koji deluju na uspostavljanje homeostaze poremećene uticajem stresa i na potenciranje potrošnje energije. Navedene funkcije se ostvaruju efektima na metabolizam, kardiovaskularni tonus i reaktivnost imunskog sistema [22]. Glukokortikoidi ispoljavaju složene efekte na raspoloženje i kognitivne funkcije, a koji se ogledaju u pojačavanju kako pozitivnih tako i

negativnih uticaja spoljašnjih nadražaja [23]. Ovi efekti učestvuju u kontroli glukokortikoidne sekrecije, obezbeđujući na taj način adekvatan odgovor na stres uz sprečavanje nastanka štetnih efekata viška glukokortikoida. Ovde će se diskutovati o mehanizmima kontrole glukokortikoidne sekrecije i patofiziološkim efektima koji nastaju kao posledica oštećenja ovih kontrolnih mehanizama.

### **1.2.1. Regulacija hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Komponente HHA osovine čine kora nadbubrega, kortikotrofne ćelije hipofize i neuroni hipotalamusa koji proizvode kortikotropin oslobađajući faktor.

#### **1.2.1.1. Kora nadbubrega**

U ćelijama zone fascikulate kore nadbubrega sintetizuju se i sekreciju glukokortikoidi kao odgovor na adrenokortikotropni hormon (ACTH) koga sekreciju kortikotrofne ćelije prednjeg režnja hipofize. Kortizol predstavlja glavni glukokortikoid kod ljudi koga sekreciju kora nadbubrega. ACTH stimuliše adrenokortikalnu steroidogenezu i sekreciju posredstvom melanokortin-2 receptora [24]. Pored toga, ACTH je od velikog značaja kao trofička potpora adrenalnom korteksu. U odsustvu ACTH, ćelije kore nadbubrega gube sekretornu sposobnost i podležu procesu apoptoze. Nasuprot tome, dugotrajna izloženost ACTH stimulaciji dovodi do povećanja veličine i broja, kao i sekretorne aktivnosti ćelija zone fasciculate [25]. Navedeni efekti su posledica uvećanja nadbubrega ili povećane osetljivosti nadbubrega na ACTH koje se ponekad viđa kod pacijenata sa Kušingovom bolešću, ili kod pacijenta sa depresijom i hiperaktivnošću HHA osovine [26]. Efekat ACTH na uvećanje nadbubrega nastaje kao posledica povećane vaskularizacije i povećane

sekrecije faktora rasta u samoj adrenlnoj kori, pre nego posledica direktne stimulacije adrenokortikalnih ćelija. Takođe, određenu ulogu mogu imati i ne-ACTH fragmenti proopiomelanokortinskog (POMC) prekursora [27,28].

Sekrecija glukokortikoida zavisi od koncentracije ACTH i od inervacije nadbubrega. Maksimalna sekrecija glukokortikoida se javlja pri relativno niskim koncentracijama ACTH. Splanhnična inervacija nadbubrega takođe utiče na adrenokortikalni odgovor na ACTH kompleksim mehanizmima koji su zavisni od cirkadijalnog ciklusa i prirode stmulusa [29].

#### **1.2.1.2. Kortikotrofne ćelije hipofize**

Kortikotrofne ćelije prednjeg režnja hipofize sintetišu ACTH selektivnom proteolitičkom obradom POMC-a. Cepanjem velikog molekula POMC, pod uticajem prohormon konvertaze 1, nastaju N-terminalni peptid, ACTH<sub>1-39</sub> i  $\beta$ -lipotropin. Kortikotrofne ćelije ne sintetišu  $\alpha$ -melanocit-stimulirajući hormon ( $\alpha$ -MSH). Za razliku od drugih ćelija koje sintetišu POMC, kao što su melanotrofne ćelije neurointermedijarnog režnja hipofize i POMC neuroni arkuatnog jedra hipotalamusa, kortikotrofne ćelije ne eksprimiraju enzim prohormon konvertazu 2 koji je neophodan za nastanak  $\alpha$ -MSH iz molekula ACTH [30].

Među stimulišućim faktorima iz hipotalamusa, a koji kontrolišu rad kortikotrofnih ćelija, najpotentniji je kortikotropin oslobađajući hormon (CRH) koji se sastoji od 41 aminokiseline. CRH povećava sekrciju ACTH i ekspresiju POMC gena u kortikotrofnim ćelijama preko G proteina vezanog za CRH receptor 1 [31]. Vazopresin i oksitocin, dva

peptida od 9 aminokiselina i sa sličnom strukturom, imaju dodatnu ulogu u CRH stimulisanjoj ACTH sekreciji. Vazopresin i oksitocin poseduju slabu sposobnost oslobađanja ACTH, ali u kombinaciji sa CRH dovode do pojačanja sekrecije ACTH što je posledica aditivnog efekta svakog hormona posebno. CRH takođe dovodi do stimulacije ekspresije gena za POMC [32]. Postoje dokazi da vazopresin i oksitocin stimulišu sekreciju ACTH preko V1b vazopresinskog receptora, poznatog i kao V3 receptor [33].

### **1.2.1.3. Neuron koji produkuje ACTH oslobađajući faktor**

Hipofizotropni CRH neuron se nalazi u medijalnom paraventricularnom hipotalamusu (PVN). Vazopresin sintetiziraju magnocelularni neuron PVN, magnocelularni neuron supraoptičkog jezra (SON) i CRH neuron parvocelularnog PVN. Oksitocin sintetiziraju magnocelularni neuron PVN i SON koji su drugačiji, osim tokom laktacije, od onih koji sintetiziraju vazopresin [34]. Mnogi CRH produkujući neuron sintetiziraju i vazopresin u uslovima homeostaze uz porast sekrecije vazopresina kao odgovor na različite stimule. Istovremena sekrecija vazopresina i CRH pojačava sekreciju ACTH u odgovoru na stimulus [35]. Neuron koji sintetiziraju oksitocin sintetiziraju i male količine CRH u uslovima homeostaze dok se u uslovima hroničnog osmotskog stimula sinteza i sekrecija povećavaju višestruko [36]. Pod uticajem glukokortikoida dolazi do inhibicije sekrecije vazopresina iz CRH neurona kao i inhibicije sekrecije CRH iz oksitocinskih neurona [34,35]. Uticaj glukokortikoida na promene u sintezi i sekreciji ACTH sekretagoga doprinosi održavanju optimalnih koncentracija glukokortikoida.

Ćelije PVN imaju razvijene aksone preko kojih se sekretuju CRH, vazopresin i oksitocin. Ova vlakna kod pacova potiču iz delova PVN koji se topografski razlikuju od regiona gde se nalaze neuroendokrini neuroni. Descendentna vlakna PVN se monosinaptički završavaju u gotovo svim delovima moždanog stabla i kičmene moždine koji sadrže parasimpatičke i simpatičke pregangljske neurone [37]. Iako ova vlakna formalno nisu deo neuroendokrine HPA osovine, ona imaju uticaj na adrenokortikalnu aktivnost indirektno utičući na aktivnost simpatičke inervacije nadbubrežnih žlezda.

#### **1.2.1.4. Povratna sprega hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Glukokortikoidna negativna povratna sprega se može podeliti na brzu, odloženu (ili intermedijernu) i sporu [38]. Prva dva tipa povratne sprege služe inhibiciji stimulisane HHA aktivnosti dok se spora povratna sprega odnosi na hroničnu izloženost glukokortikoidima tokom nekoliko dana ili nedelja, a utiče i na bazalnu i stimulisanu hipotalamo-hipofiznu aktivnost. Hirurška ili hemijska adrenalektomija sa posledničnim uklanjanjem normalnog glukokortikoidnog uticaja dovodi do porasta koncentracije ACTH u plazmi, povećanja genske ekspresije za POMC u prednjem režnju hipofize, sekrecije i genske ekspresije CRH i vazopresinskih neurona parvocelularnog PVN [25,35,39,40]. Kod pasa i ljudi postoji odgovor vazopresina zadnjeg režnja hipofize na različite koncentracije glukokortikoida [41]. Primena fiksnih doza kortikosterona kod adrenalektomisanih glodara normalizuje bazalnu aktivnost hipotalamo-hipofizne osovine pod uslovom da su koncentracije primenjenih glukokortikoida slične srednjim cirkadijalnim vrednostima. Kada dugotrajna primena glukokortikoida kod adrenalektomisanih ili normalnih eksperimentalnih životinja prevazilazi normalne 24h srednje vrednosti, dolazi do smanjenja



odgovora HHA osovine na stimuluse sa posledičnim smanjenjem bazalne aktivnosti [42]. Dugotrajno održavanje visokih koncentracija glukokortikoida, kakvo se viđa kod pacijenta sa Kušingovim sindromom ili kod pacijenata koji dobijaju visoke doze kortikosteroida sa ciljem imunosupresije, dovodi do smanjenja koncentracije ACTH i njegovog antiapoptičnog efekta na koru nadbubrega. U zavisnosti od koncentracije i dužine izloženosti kortikosteroidima, nekada je potrebno i do godinu dana da dođe do oporavka HHA osovine, a nastala adrenalna insuficijencija predstavlja značajan rizik od morbiditeta i mortaliteta [43].

Dve vrste receptora posreduju u efektima endogenih adrenalnih glukokortikoida: mineralokortikoidni receptor (MR, ili tip I) koji je većeg afiniteta ali manjeg kapaciteta i glukokortikoidni receptor (GR, ili tip II) koji je manjeg afiniteta ali većeg kapaciteta vezivanja. Ekspresija MR receptora je ograničena na organe na koje deluje aldosteron, kakvi su bubrezi i debelo crevo, i pojedine delove mozga [44]. Vezivanje adrenalnih glukokortikoida za MR receptore perifernih tkiva je sprečeno delovanjem  $11\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaze tip 2, koja konvertuje kortizol ili kortikosteron u neaktivne 11-dehidro oblike [45]. Zbog veće ekspresije MR, mozak je osetljiviji na glukokortikoidnu povratnu spregu nego kortikotrofne ćelije. Iako se MR u manjoj meri nalaze i u prednjem režnju hipofize, pokazano je da se u hipofizi značajniji efekti ostvaruju posredstvom GR [46], dok je inhibicija moždano-hipofizne osovine predominantno regulisana preko MR [47]. Poređenjem osetljivosti mozga i hipofize na uticaj glukokortikoida kod pacova sa lezijom PVN pokazano je da bez hipofizotropnih signala ne dolazi do porasta koncentracije ACTH u odsustvu glukokortikoida. Kod pacova sa lezijama PVN su potrebne

suprafiziološke koncentracije glukokortikoida kako bi se inhirala CRH indukovana sekrecija ACTH [48].

Kao i kortikotrofne ćelije, PVN i ostatak hipotalamusa ekspirira samo GR [44]. Najveća ekspresija MR se nalazi u hipokampusu i septumu dok se ekspresija umerenog nivoa nalazi u amigdalama, jedrima kranijalnih nerava i u relejnim centrima autonomnog nervnog sistema kao što je jedro solitarnog trakta (NTS) i nukleusa ambiguusa [49]. Obzirom na rasprostranjenu ekspresiju GR u zadnjim i prednjim segmentima mozga iz kojih polaze aferentna vlakna za PVN [44], može se pretpostaviti da GR posredovana povratna sprega nastaje u brojnim mestima proksimalno od CRH neurona. Potporu za ovu pretpostavku čine inhibitorni efekti lokalizovanih steroidnih implanta na HHA osovinu [50-52].

### **1.3. Cirkadijalna hipotalamo-hipofizno-adrenalna aktivnost**

Koncentracija glukokortikoida u homeostatskim uslovima zavisi od cirkadijalnog ritma. Najveća koncentracija glukokortikoida se beleži u periodu oko buđenja i traje 2 do 4 sata, uz pad koncentracije sličnog trajanja u periodu kada nastupa san. Kod ljudi sa normalnim diurnalnim aktivnostima najviša koncentracija glukokortikoida se javlja u ranim jutarnjim časovima dok se najniže vrednosti javljaju oko 23h. Međutim, kod glodara koji su aktivni noću ovaj ritam je obrnut.

### **1.3.1. Centralna kontrola cirkadijalnog ritma hipotalamo-hipofizno-adrenalne aktivnosti**

Povećanje sekrecije glukokortikoida u odnosu na cirkadijalni ritam zavisi od povećanja aktivnosti hipotalamo-hipofizne osovine i povećanja osetljivosti adrenalne kore na ACTH. Tako u periodu najniže sekrecije glukokortikoida, kada oni mogu biti i nemerljivi, uticaj hipotalamusa na sekreciju glukokortikoida je minimalan [25]. Cirkadijalna aktivnost HHA osovine postoji i u odsustvu svetlosti i zavisi od hipotalamusnog suprahijazmatskog jedra (SCN). SCN stimuliše maksimalnu aktivnost hipotalamo-hipofizne osovine [53]. Unos hrane takođe utiče na aktivnost HPA osovine koji je nezavisan od SCN i ukoliko je odvojen od normalne dnevne aktivnosti i ciklusa svetlostama, može nadjačati SCN kontrolu [54].

### **1.3.2. Glukokortikoidima posredovana kontrola cirkadijalnog ritma hipotalamo-hipofizno-adrenalne aktivnosti**

Hipotalamo-hipofizna aktivnost pokazuje cirkadijalnu ritmičnost u odsustvu glukokortikoida, ali je regulacija ovog ritma veoma osetljiva na njihov inhibitorni uticaj. Inhibitorna povratna sprega obezbeđuje precizno tempiranje i kontrolisanje koncentracije glukokortikoida. Niske koncentracije kortikosterona koje su potrebne za smanjenje koncentracije ACTH kod adenektomisanih glodara, i da obezbede njegov cirkadijalni pad, ukazuje da je negativna povratna sprega u ovo doba dana posredovana preko MR. Razlika između genske ekspresije ACTH sekretagoga i koncentracije ACTH u plazmi, koja

odražava sekreciju sekretagoga, ukazuje da inhibicija sekrecije ACTH osobađajućih faktora nastaje proksimalno od hipofizotropnih neurona [25].

Adekvatna regulacija najveće cirkadijalne aktivnosti HHA osovine zahteva aktivaciju i GR i MR. Ovaj efekat je u saglasnosti sa kapacitetom GR da veže veće količine glukokortikoida koji se sekretuju tokom ovog perioda. Centralni pokretač većih koncentracija glukokortikoida se vidi u uslovima oštećene sinteze adrenalnih steroida ili njene blokade nakon adrenalektomije ili primene niskih koncentracija glukokortikoida u cilju supstitucije. U ovim situacijama u trenutku maksimalne cirkadijalne sekrecije nastaje značajno povećanje koncentracije ACTH u plazmi, ekspresija POMC iRNK u prednjem režnju hipofize i genska ekspresija CRH i vazopresina u parvocelularnom PVN [40,55]. Hronična blokada GR sistemskom primenom antagoniste glukokortikoida RU 486 takođe dovodi do dezinhibicije HHA aktivnosti u trenutku cirkadijalne maksimalne sekrecije [56]. U kontroli maksimalne cirkadijalne aktivnosti HHA osovine neophodna je aktivacija i MR. Akutna i hronična primena MR antagonista dovodi do povećanja cirkadijalnog maksimuma i kasnije aktivnosti HHA osovine i kod glodara i kod ljudi [39,57].

### **1.3.3. Patofiziologija oštećene cirkadijalne aktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Održavanje niske koncentracije glukokortikoida u periodu od 4 do 6 sati je značajno kako bi se izbegli neželjeni efekti glukokortikoidnog ekscesa na periferna tkiva. Efekti glukokortikoida na periferiji se često nazivaju „permissivnim“ kako bi se pokazalo da ne zahtevaju porast koncentracije glukokortikoida za vreme stresa, ili porast koncentracije do

nivoa koji se vide tokom stresa. Ovaj termin je neadekvatan jer ukazuje da je koncentracija glukokortikoida od sekundarnog značaja sve dok postoje i minimalne koncentracije glukokortikoida. Zapravo, odstupanja od koncentracija koje su definisane cirkadijalnim ritmom imaju značajan uticaj na regulaciju funkcije HHA osovine i drugih glukokortikoid zavisnih procesa. Primena kortikosteronskih implanta kod pacova izaziva povećanje ukupne cirkadijalne koncentracije glukokortikoida sa posledičnom inhibicijom endogene adrenokortikalne aktivnosti kako bi se održale konstantne srednje vrednosti koncentracija glukokortikoida tokom 24 časa. Uprkos sličnim 24 časovnim srednjim vrednostima koncentracija kod pacova, sa povećanim ukupnim cirkadijalnim koncentracijama kortikosterona dolazi do pojave znakova insulinske rezistencije i supresije imunskog sistema [42].

Posledice neadekvatne sekrecije glukokortikoida tokom cirkadijalnog maksimuma su slabije definisane. Primena glukokortikoida imitirajući cirkadijalni ritam umesto davanja jednakih doza leka kod adrenaletomisanih pacova obezbeđuje efikasnije okončanje ACTH odgovora na stress [58]. Cirkadijalna aktivnost HHA osovine se može poremetiti i kod zdravih ljudi promenom ciklusa aktivnosti, deprivacijom spavanja ili procesom starenja. Smatra se da nedostatak sinhronizacije između sekrecije glukokortikoida i signala iz spoljašnje sredine doprinosi nastanku neželjenih efekata rada u smenama kao i nelagodnosti pri promeni vremenske zone [59]. Nedostatak sna dovodi do povećanja koncentracije kortizola u periodu dana kada bi inače ona fiziološki bila najniža što može doprineti smanjenju tolerancije na glukozu. Postoje dokazi da blag porast bazalne sekrecije glukokortikoida ima značajne metaboličke posledice. Tokom procesa starenja dolazi do

porasta bazne sekrecije glukokortikoida [60] što može doprineti dobijanju u telesnoj težini i taloženju visceralnog masnog tkiva u starijoj životnoj dobi, a što je predstavlja značajan rizik za mortalitet i morbiditet [61]. Takođe, Kušingov sindrom i poremećaji raspoloženja u psihijatrijskih bolesnika mogu poremetiti cirkadijalni ritam sekrecije glukokortikoida i uticati na povećanje bazalnih nivoa kortizola [62].

#### **1.4. Efekti stresa na funkciju hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Smatra se da stres predstavlja svaku pretnju, subjektivnu ili objektivnu, opštem stanju organizma. Iako inicijalno okarakterisan kao nespecifični odgovor, stresom indukovana aktivacija HHA osovine je visoko specifičan proces, gde se nervni impulsi prenose specifičnim aferentnim putevima do hipotalamusa, a zatim se prevode u endokrine signale specifičnom kombinacijom hipotalamusnih ACTH osobađajućih faktora. Kao posledica ovoga nastaje hipofizno adrenalni odgovor čiji stepen zavisi od intenziteta stimulus [25]. Fizički stresor koji se definiše kao situacija koja predstavlja realnu opasnost za nastanak povrede ili smrti, stimuliše HHA osovinu preko somatosenzornih, viscerosenzornih i osmosenzornih aferentnih puteva. Većina ovih puteva void do moždanog stabla ili diencefalona [51]. Izazivana su selektivna oštećenja puteva koji polaze iz NTS ili ventrolateralne produžene moždine kako bi se proučavao njihov uticaj na aktivaciju HHA osovine nakon krvarenja, hipoglikemije, hipoksije ili sistemske primene interleukina (IL) 1 $\beta$  [36,63]. Navedeni regioni mozga su relejni centri aferentnih vlakana baroreceptora, hemoreceptora i vagusa, i igraju značajnu ulogu u percepciji koncentracije glukoze [64].

#### **1.4.1. Uticaj stresa na faktore koji stimulišu lučenje kortikotropina**

Aferentni nervni impulsi koji nastaju pod uticajem različitih stresora se u hipotalamusu prevode u specifičnu kombinaciju ACTH sekretagoga. Zna se da CRH, vazopresin i oksitocin imaju ulogu u stimulaciji sekrecije ACTH nakon stresom indukovne aktivacije HHA osovine. Sekrecija ACTH je u najvećoj meri zavisna od efekata CRH. Pod uticajem svih oblika stresa dolazi do određenog stepena aktivacije PVN CRH neurona što se može potvrditi merenjem koncentracije CRH u portalnoj cirkulaciji, smanjenjem koncentracije CRH u nervnim završecima spoljašnjeg dela eminencije medijane, povećanjem ekspresije CRH gena ili indukcijom nervnog markera aktivnosti, FOS, u CRH neuronima [36,51].

Pod uticajem stresora dolazi do aktivacije CRH neurona dok se fina modulacija odgovora na različite stresore postiže sekrecijom vazopresina i oksitocina. Različiti fizički stresori, kao što su hipoglikemija, krvarenje, stimulacija imunskog sistema i inhalacija etra, dovode do aktivacije parvocelularnih PVN neurona koji sintetišu vazopresin i CRH [35]. Tokom fizičkog stresa takođe mogu biti aktivirani i PVN oksitocinski receptori, sa ili bez dodatne sekrecije vazopresina [36].

#### **1.4.2. Regulacija odgovora hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na stres mehanizmom povratne sprege**

Stresom indukovana aktivacija HHA osovine je pod uticajem brze i odložene povratne sprege. Brza povratna sprega, koja se aktivira nekoliko sekundi nakon delovanja stimulusa, ne zahteva sintezu proteina, zavisi od stepena porasta koncentracije

glukokortikoida i dovodi do inhibicije aktivnosti neurona posredstvom receptora na površini ćelije [25]. Glukokortikoidi smanjuju ekscitabilnost PVN neurona retrogradnom endokanabinoidnom inhibicijom presinaptičkog oslobađanja glutamata [65]. Odložena povratna sprega nastaje tokom 30 do 60 minuta, zahteva sintezu novih proteina i može uticati i na kortikotrofni [66] i na hipotalamički [38] odgovor na stimulus. Pojedini delovi mozga mogu posredovati u inhibiciji odgovora HHA osovine na stres. Davanje GR antagoniste RU 486 direktno u PVN pojačava odgovor glukokortikoida na stres uzrokovan plivanjem, ukazujući da je visok nivo ekspresije GR u PVN značajan u kontroli stresom indukovane HHA aktivnosti [67].

### **1.4.3. Uticaj hroničnog stresa**

U uslovima hroničnog stresa, odgovor HHA osovine je očuvan uprkos povišenim vrednostima glukokortikoida. Iako odgovor HHA osovine može biti inhibiran na ponavljajuće stresore (habituacija), odgovor na nove stresore može biti pojačan (facilitacija). Procesi habituacije i facilitacije su adaptivni mehanizmi koji obezbeđuju da se umanje negativni efekti visoke koncentracije glukokortikoida uz očuvanje adrenokortikalne funkcije, koja bi inače bila suprimovana procesom habituacije i glukokortikoidima indukovane inhibicije sekrecije ACTH. Smatra se da povećana ekspresija vazopresina u CRH neuronima tokom hroničnog stresa doprinosi održavanju funkcije HHA osovine premda i CRH neuroni koji ne sintetišu vazopresin mogu imati određenu ulogu u održavanju funkcije HHA osovine tokom hroničnog stresa [68].



Svaka nemogućnost započinjanja ili adekvatnog gašenja odgovora HHA osovine na stres je štetna po organizam. Suptilne promene u stresom indukovanoj aktivaciji HHA osovine mogu doprineti nastanku zdravstvenih problema. Simptomi metaboličkog sindroma (visceralna gojaznost, povišen arterijski krvni pritisak, tip 2 dijabetesa) imaju značajna preklapanja sa simptomima Kušingovog sindroma [69].

### **1.5. Citokini kao regulatori aktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Citokini predstavljaju grupu molekula koje stvaraju ćelije imunskog sistema i imaju ulogu u hemotaksi, rastu i diferencijaciji ćelija. Citokini pripadaju velikoj porodici polipeptidnih signalnih molekula koje oslobađaju različite ćelije kao odgovor na različite stimulse. To su mali proteini prosečne veličine od 25 kDa (raspon od 6 do 51) koji se vezuju za specifične receptore autokrino, parakrino ili endokrino. U citokine spadaju interleukini, interferoni, faktori stimulacije kolonija i faktori tumorske nekroze. Slično hormonima, citokini su prisutni u cirkulaciji i ispoljavaju direktne efekte na tkiva endokrinog sistema. Receptori za nekoliko citokina su identifikovani u nadbubrežima, prednjem režnju hipofize i mozgu [70]. Međutim, značajno je da većina citokina stimuliše HHA osovinu. Povećana koncentracija citokina, naročito IL-6, je nađena u uslovima neimunski posredovanog stresa kao što je sputavanje kretanja eksperimentalne životinje [71]. Takođe je pokazano da IL-6 doprinosi adrenokortikalnoj aktivaciji [72]. Zbog toga se smatra da bi citokini mogli imati značajniju ulogu u regulaciji funkcije endokrinog sistema. Sa stanovišta imunskog sistema, citokinima stimulisana sekrecija glukokortikoida

procesom katabolizma obezbeđuje priliv materija neophodnih za borbu sa patogenim mikroorganizmina ili za zarastanje rana, u nastanku akutnog zapaljenskog odgovora i u prevenciji potencijalno fatalne pojačane aktivacije imunskog odgovora [22].

## **1.6. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina tokom teške bolesti**

Aktivacija HHA osovine čini jedan od nekoliko značajnih odgovora organizma na stres i tešku bolest [73,74]. Kao posledica aktivacije ove osovine dolazi do lučenja kortizola, glavnog glukokortikoidnog hormona koji se sekretuje iz zone fascikulate adrenalne kore. Kortizol ima značajnu ulogu u fiziološkim procesima koji nastaju nakon traume, tokom teških bolesti ili delovanjem drugih stresora. Ovaj hormon ima značajnu ulogu u procesu glukoneogeneze, ima antiinflamatorni efekat, utiče na održavanje vaskularnog tonusa, integriteta endotela, povećava osetljivost na vazopresorne supstance, smanjuje vazodilatatorni efekat posredovan azotmonoksidom i utiče na proces sinteze angiotenzina. Značaj kortizola za preživljavanje nakon većeg stresnog događaja se najbolje može videti kod pacijenata sa parcijalnim ili kompletnim deficitom glukokortikoida [75].

Brojnim studijama je pokazana aktivacija HHA osovine tokom akutnih i hroničnih stresnih događaja kao što je veća hirurška intervencija [76,77], sepsa [78-80], trauma [81] i opekotine [82]. U celini gledano, stepen aktivacije ove osovine je proporcionalan nivou stresa. Iako stepen porasta serumske koncentracije kortizola ne mora linearno korelirati sa težinom oboljenja, u pojedinim studijama je pokazano da pacijenti sa najvećim koncentracijama kortizola imaju i najveći stepen mortaliteta [83]. U pojedinim studijama aktivacija HHA osovine kod teško obolelih pacijenata je verifikovana merenjem

koncentracije serumskog kortizola nakon stimulacije kosintropinom. Brojne metode i merenja koje se koriste za procenu sekrecije glukokortikoida imaju značajna ograničenja koja mogu dati pogrešne rezultate.

### **1.6.1. Normalna fiziologija hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine**

Sekrecija kortizola je pod kontrolom ACTH iz hipofize koji je primarno regulisan hipotalamusnom sekrecijom CRH. Sekrecija CRH je pulsatilna i prati je pulsatilna sekrecija ACTH. Autonomni nervni sistem modulira sekreciju CRH preko hipotalamusa. Sekretovani ACTH stimuliše sintezu i sekreciju kortizola u zoni fascikulati kao i dehidroepiandrosterona (DHEA) u zoni retikularis adrenalne kore. Iako je primarni regulator sekrecije aldosterona sistem renin-angiotenzin, ACTH utiče na sekreciju i aldosterona. Sekrecija kortizola je regulisana hipotalamusnom sekrecijom CRH i posledičnom sekrecijom ACTH iz hipofize. Negativnom povratnom spregom endogeni kortizol, slično delovanju egzogenih glukokortikoida, utiče na dalju sekreciju CRH i ACTH obezbeđujući ravnotežu ovog sistema. Iako ACTH reguliše sekreciju DHEA i dehidroepiandrosteron sulfata (DHEA-S) iz zone retikularis, ovi steroidni hormoni nemaju uticaj na sekreciju ACTH. DHEA i DHEA-S imaju značajne fiziološke efekte ali njihova potencijalna uloga tokom teške bolesti nije dovoljno poznata. Postoji pretpostavka da DHEA i DHEA-S mogu imati imunomodulatorni efekat tako da je neophodno dodatno ispitivanje njihove sekrecije i funkcije tokom teške bolesti.

Vazopresin je dobro poznati modulator sekrecije ACTH. On stimuliše sekreciju ACTH kod zdravih dobrovoljaca i koristi se kao dijagnostički test za procenu stanja koja su

povezana sa povećanim ili sniženim koncentracijama ACTH. Međutim, neophodno je prisustvo CRH kako bi se ispoljio stimulatorni efekat vazopresina na sekreciju ACTH [73,74].

### **1.6.2. Promene u funkciji hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti**

Tokom teške bolesti funkcija i regulacija HHA osovine je značajno promenjena. Pored hipotalamusnih hormona, CRH i vazopresina, značajni modulatori HHA osovine tokom teške bolesti su i autonomni nervni sistem kao i inflamatorni citokini, pre svega IL-1, IL-6 i TNF $\alpha$ . U uslovima inflamacije ovi citokini mogu dovesti do sekrecije i održavanja visokih koncentracija glukokortikoida. Receptori za IL-6 nađeni su na kortikotrofnim ćelijama hipofize, kao i na ćelijama adrenalne kore. Smatra se da citokini oslobođeni sa mesta povrede ili nakon kontakta sa endotoksinima, dovode do aktivacije HPA osovine stimulišući klasičan put CRH i ACTH sekrecije. Sinergističim efektom ovih citokina dolazi do povećane sekrecije ACTH, značajno veće od one koja nastaje nakon stimulacije samo sa CRH [84,85].

Tokom stresnog događaja dolazi do značajne aktivacije HHA osovine sa posledičnim povećanjem koncentracije ACTH u plazmi kao i povećanjem koncentracije kako ukupnog tako i slobodnog kortizola. Pored povećane adrenalne produkcije ili sekrecije glukokortikoida, i snižena degradacija i izlučivanje glukokortikoida doprinosi povećanju koncentracije kortizola tokom teške bolesti. Ovaj mehanizam je naročito od značaja kod pacijenata sa oštećenom hepatocelularnom funkcijom, poremećajem u hepatičnoj

cirkulaciji, ili oštećenom bubrežnom i tiroidnom funkcijom. Povećenje sekrecije kortizola se najpre ogleda u značajnom porastu slobodne frakcije hormona [86]. Nivo kortizola tokom teške bolesti dostiže koncentracije koju se veće i od onih koje se sreću kod pacijenata sa Kušingovim sindromom, uz manji stepen supresibilnosti nakon egzogene primene glukokortikoida, kao što je deksazon. Tako uprkos primeni visokih doza deksametazona (24 mg/dan) izostala je supresija oba hormona (ACTH i kortizola) u periodu dužem od dva dana. Odgovor ACTH i kortizola nakon egzogene primene CRH je pojačan tokom teške bolesti. Iako je ACTH dominantan faktor stimulacije sekrecije kortizola iz kore nadbubrega tokom teške bolesti, i drugi faktori mogu imati značajnu ulogu u modulaciji ove osovine. Neki od tih faktora su arginin vazopresin (naročito u uslovima hipovolemije), endotelin, atrialni natriuretski faktor (ANF) [87], i brojni citokini kakav je i IL-6 [88]. Inhibitorni faktor migracije makrofaga (MIF) je još jedan modulator HHA osovine, naročito tokom ozbiljnih inflamatornih procesa kakav je septički šok. Smatra se da MIF ima i proinflamatorni i antiinflamatorni efekat, kao i ulogu u homeostaznim i fiziološkim efektima glukokortikoida *in vivo* [89].

Postoje dokazi da je rani odbrambeni mehanizam zaštite protiv bakterijskih ili virusnih infekcija započinje aktivacijom TOLL-like (TL) receptora. To su receptori koji detektuju i reaguju na mikrobne ligande. Ovi receptori su eksprimirani na površini ćelija adrenalnog korteksa. Još uvek nije u potpunosti poznata uloga TL receptora tokom teške bolesti. Nedavno sprovedena istraživanja su pokazala da postoji veliki broj polimorfizama ovih receptora, a moguće je da neki od ovih polimorfizama imaju zanačaja u individualnim razlikama u odgovoru na stres [90].

Studije koje su se bavile efektom glukokortikoida in vivo su pokazale da ovi molekuli imaju različite uloge, od permisivne do supresivne, u zavisnosti od njihove koncentracije. Fiziološke koncentracije su povezane sa permisivnim efektom, dok su visoke koncentracije kakve se viđaju tokom teške bolesti, povezane sa supresivnim ili antiinflamatornim efektom. Antiinflamatorni efekat glukokortikoida je najpoznatiji i možda najznačajniji [91]. Glukokortikoidi mogu da menjaju svoj efekat na ciljnim tkivima menjajući gustinu i afinitet vezivanja citokinskih receptora. Oni takođe moduliraju produkciju MIF-a od strane makrofaga [92]. Postoje podaci koji govore u prilog postojanja rezistencije na glukokortikoide tokom teške bolesti, naročito u slučaju teške sepse ili septičkog šoka, a koja nastaje na nivou glukokortikoidnog receptora ili na postreceptorskom nivou. Izgleda da niže koncentracije inflamatornih citokina imaju stimulatorni efekat na sekreciju kortizola i olakšavaju njegovo vezivanje za glukokortikoidne receptore [93]. Još uvek nije poznato da li sekrecija MIF-a doprinosi nastanku relativne glukokortikoidne rezistencije.

### **1.6.3. Kratkotrajni stres vs. dugotrajna teška bolest**

Pokazano je da postoje razlike u odgovoru neuroendokrinog sistema na akutnu, kratkotrajnu (nekoliko sati ili dana) tešku bolest i na dugotrajnu (više dana ili meseci) tešku bolest. Pacijenti sa dugotrajnom teškom bolešću su preživeli period akutne faze, što je pokazatelj adekvatnosti u funkcionisanju HHA osovine. Između ova dva tipa teške bolesti postoje značajne metaboličke, nutritivne i hormonske razlike. Istraživanja su potvrdila postojanje razlike u funkciji somatotrofnih ćelija kao i u hipofizno-tiroidne osovine između ova dva tipa bolesti. Takođe su pokazane razlike i u regulaciji HHA osovine, sekreciji

kortizola i adrenalnih androgena. Odgovor HHA osovina tokom teške bolesti je bifazan. Tokom inicijalne faze bolesti, kao što su hirurška intervencija, nekomplikovana trauma, opekotine, infekcija ili sepsa, aktivacija HHA osovine primarno nastaje sekrecijom CRH ili oslobođenim citokinima. Biohemijski inicijalna faza se karakteriše povećanim koncentracijama ACTH i kortizola u plazmi. Hiperkortizolemija obezbeđuje energiju i štiti telo intenziviranjem procesa glukoneogeneze, održavanjem intravaskularnog volumena i inhibicijom akutne zapaljenske reakcije. Nasuprot ovome, pokazano je da tokom dugotrajne teške bolesti dolazi do smanjenja koncentracije ACTH u plazmi dok se stanje hiperkortizolemije održava. Iz navedenog proizilazi zaključak da je sekrecija kortizola u stanjima teške bolesti regulisana drugim alternativnim putevima, različitim od klasičnog hipotalamusnog CRH puta. Kako je ranije rečeno, faktori koji mogu uticati na sekreciju kortizola su ANF, endotelin, supstanca P i veći broj citokina. Uloga dugotrajne hiperkortizolemije je u obezbeđivanju energije, održavanju vaskularnog volumena i smanjenju inflamacije. Međutim, dugotrajna hiperkortizolemija može doprineti nastanku dugoročnih komplikacija koje se javljaju kod pacijenata sa dugotrajnom teškom bolešću kao što su hiperglikemija, miopatija, usporeno zarastanje rana i mentalni poremećaji [94].

### **1.7. Modulirajući faktori i ograničenja raspoloživih metoda za procenu hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti**

Postoji nekoliko značajnih faktora koji utiču na funkciju HHA osovine i posledično na kvalitet podataka dobijenih tokom kliničkih istraživanja ili uticati na njihovo adekvatno

tumačenje. Ovo se naročito odnosi na podatke dobijene ispitivanjem pacijenata sa dugotrajnim teškim bolestima.

### **1.7.1. Odnos ukupnog i slobodnog kortizola**

Transkortin ima mali kapacitet ali veliki afinitet vezivanja kortizola dok albumin ima veliki kapacitet ali mali afinitet vezivanja kortizola. Kod ljudi u fiziološkim uslovima, transkortin može vezati do 25 µg/dL cirkulišućeg kortizola. Nakon saturacije transkortina veliki procenat cirkulišućeg kortizola se vezuje za albumin. Postepeno smanjenje procenta vezanog kortizola nastaje kada koncentracija albumina u plazmi padne ispod 2.0 g/dL [95].

Opšte je prihvaćeno da je slobodna frakcija kortizola biološki aktivna i da je odgovorna za fiziološke efekte. Obzirom da je više od 90% cirkulišućeg kortizola u humanom serumu vezano za proteine (transkortin i albumin), pretpostavka je da promene u količini i funkciji ovih proteina mogu uticati na izmerene koncentracije serumskog kortizola [86] i kao posledica toga uticati na adekvatnu interpretaciju rezultata dobijenih testovima za procenu adrenalne funkcije. Značaj pada koncentracije transkortina na izmerene vrednosti kortizola je pokazan kod pacijenata sa sepsom, traumom i onih koji su bili podvrgnuti većoj hirurškoj intervenciji. Zbog navedenog je preporuka da se koriste računski korekcionni faktori, odnosno indeksi slobodnog kortizola dobijeni deljenjem serumске koncentracije kortizola sa serumskom koncentracijom transkortina, a čime se obezbeđuje tačnija procena sekrecije kortizola. Međutim, problem ovakvih istraživanja je što nije vršeno merenje koncentracija slobodnog kortizola i nije uzet u obzir uticaj hipoalbuminemije koja je često praćena i niskim koncentracijama transkortina [81].



Jedan od mogućih mehanizama smanjenja serumske koncentracije transkortina tokom teške bolesti je u njegovoj pojačanoj degradaciji od strane elastaze sekretovane iz aktiviranih neutrofila na mestu inflamacije. Kao posledica, dolazi do povećanja dopremanja slobodnog kortizola ciljnim ćelijama, u ovom slučaju ćelijama na mestu zapaljenja. Uprkos normalnoj adrenalnoj funkciji, dokazanoj adekvatnim baznim i kosintropinom stimulisanim koncentracijama slobodnog kortizola, oko 40% pacijenata sa hipoproteinemijom ima neadekvatne kosintropinom stimulisane serumske koncentracije ukupnog kortizola. Rezultate baznih i stimulisanih koncentracija kortizola kod pacijenta sa hipoalbuminemijom je potrebno tumačiti sa posebnim oprezom. Navedeni rezultati su u saglasnosti sa sličnom studijom kod bolesnika sa sepsom i septičkim šokom što ukazuje na superiornost određivanja koncentracije slobodnog kortizola u odnosu na određivanje koncentracije ukupnog kortizola za procenu funkcije HHA osovine [80].

### **1.7.2. Određivanje serumske koncentracije kortizola**

Zbog postojanja varijacija u rezultatima dobijenim različitim metodama merenja koncentracije kortizola, jasno je da pojedine metode mogu dati lažno manje ili lažno veće vrednosti kortizola od aktuelnih. Trenutno komercijalno dostupne metode omogućuju merenje koncentracije ukupnog (slobodna plus za proteine vazana frakcija) kortizola. Specifičnost, senzitivnost, koeficijent varijacije i tehničke karakteristike ovih komercijalno dostupnih metoda nije uniformna zbog postojanja značajnih varijacija u karakteristikama imunoeseja [96]. Postoji mogućnost da su kod teško obolelih pacijenata, naročito onih sa septičkim šokom, razlike u karakteristikama različitih metoda značajnije. Pojedini pacijenti u serumu imaju heterofilna antitela koja mogu interferirati sa komponentama imunoeseja

dajući pogrešne rezultate. Svakako najspecifičniji metod merenja predstavlja masena spektrometrija koja nije komercijalno dostupna [97].

### **1.7.3. Standardni testovi za procenu hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine tokom teške bolesti**

Danas je prihvaćeno više metoda za procenu adrenalne funkcije kod teško obolelih pacijenata. U proceni normalne adrenalne funkcije pojedini autori se u potpunosti oslanjaju na nasumično dobijenu koncentraciju ukupnog kortizola, pojedini autori koriste niskodozni (1 µg) kosintropinski stimulacioni test, dok većina koristi standardni stimulacioni test sa 250 µg kosintropina. Još uvek ne postoji konsenzus koji metod treba koristiti u proceni normalne adrenalne funkcije. Većina autora koristi bazalne i / ili kosintropinom stimulisane koncentracije kortizola dobijene na zdravim dobrovoljcima kao kriterijum definisanja normalne adrenalne funkcije kod teško obolelih pacijenata. Pokazano je da teško oboleli pacijenti imaju veće bazne kao i kosintropinom stimulisane vrednosti serumskog kortizola. Oslanjanje na ukupne vrednosti serumskog kortizola kod pacijenata sa teškom bolešću koja je često praćena hipoproteinemijom, predstavlja dodatnu otežavajuću okolnost u proceni adrenalne funkcije [86].

Pojedini autori sugerišu da je nasumično izmerena ukupna koncentracija kortizola između 15 i 34 µg/dL dovoljan kriterijum normalne adrenalne funkcije. Autori koji se oslanjaju na kosintropinom stimulisane koncentracije kortizola definišu adekvatnu adrenalnu funkciju kao porast kortizola >9 µg/dL u odnosu na bazalne vrednosti i / ili njegov maksimalni skok od 20-25 µg/dL. U zavisnosti od toga koji se kriterijum koristi

incidenca adrenalne disfunkcije kod teško obolelih pacijenata se kreće između 0 pa sve do preko 60%. U pojedinim studijama je pokazano da određivanje kosintropinom stimulisanih koncentracija kortizola (najčešće  $>7-9 \mu\text{g/dL}$ ) radi procene adrenalne funkcije teško obolelih pacijenata može dati pogrešne zaključke, obzirom da bi se na ovaj način kod skoro 40% teško obolelih pacijenata, a koji nemaju oboljenje nadbubrga i koji su se oporavili i bez primene glukokortikoida, postavila pogrešna dijagnoza relativne adrenalne insuficijencije [77]. Na osnovu ovoga se može reći da kosintropinski test nije nužno najbolji metod procene normalne adrenalne funkcije, osim ukoliko se ne sumnja na primarnu adrenalnu insuficijenciju. Kosintropinski test nije savršen test za pacijente sa sumnjom na centralni (hipotalamusni ili hipofizni) glukokortikoidni deficit. Mnogi pacijenti sa centralnom adrenalnom insuficijencijom imaju parcijalni, pre nego kompletni deficit ACTH i iz tog razloga mogu imati normalan odgovor na kosintropin. Potrebno je naglasiti da kosintropinski test nije merodavan kod pacijenta koji su dobijali deksametazon, obzirom da čak i kratkotrajna primena ovog glukokortikoida može poremetiti odgovor. U cilju verifikovanja adrenalne disfunkcije kod teško obolelih pacijenata, naročito onih sa septičkim šokom, pojedini autori koriste postepeni porast koncentracije ukupnog kortizola. U radu Rotvela i saradnika kosintropinom indukovani porast koncentracije kortizola predstavlja značajan prognostički faktor kod pacijenata sa sepsom. Navedeni autori su prvi uveli termin relativne adrenalne insuficijencije kako bi opisali neadekvatan odgovor kortizola nakon kosintropinske stimulacije [78].

Postoji nekoliko mogućih objašnjenja za neadekvatan odgovor kortizola ( $<250 \text{ nmol/L}$  ili  $9 \mu\text{g/dL}$ ) nakon kosintropinske stimulacije. Kod pacijenata sa normalnom

koncentracijom transkortina pri koncentraciji kortizola od 22-25  $\mu\text{g/dL}$  dolazi do saturacije ovog transportnog sistema [98]. Dalji porast koncentracije kortizola preko ovog nivoa, kao u slučaju stimulacije kosintropinom, dovodi do povećanog vezivanja kortizola za albumin ali i povećanja koncentracije slobodnog kortizola u cirkulaciji. Trenutno dostupnim metodama merenja određuje se koncentracija ukupnog kortizola (kortizol vezan za transkortin, i albumin plus slobodni kortizol). Na osnovu toga se može pretpostaviti da smanjenje serumske koncentracije transkortina, koje je karakteristično za pacijente sa teškim bolestima, naročito one sa septičkim šokom, dovodi do povećanja koncentracije slobodnog kortizola [80]. Zbog toga neadekvatan porast koncentracije ukupnog kortizola kod teško obolelih pacijenata nakon stimulacije kosintropinom mogao bi biti posledica smanjene koncentracije transkortina kod ovih pacijenata. Procenat pacijenata koji su imali kosintropinom indukovani porast kortizola manji od 9  $\mu\text{g/dL}$  je bio značajno manji među teško obolelim pacijentima sa relativno normalnim serumskim koncentracijama albumina i transkortina u odnosu na one sa hipoproteinemijom uprkos činjenici da su obe grupe imale slične koncentracije slobodnog kortizola. Trenutno dostupni podaci ukazuju da je neadekvatan odgovor kortizola nakon stimulacije kosintropinom ( $<250 \text{ nmol/L}$ ) loš prognostički znak povezan sa većom stopom mortaliteta kod pacijenata sa septičkim šokom [79].

Potrebno je razmotriti i druga objašnjenja za neadekvatan porast kortizola nakon stimulacije kosintropinom, naročito kod pacijenata čije bazne vrednosti kortizola nisu povišene. Tako je pokazano da kod 40% kritično obolelih pacijenata sa hipoproteinemijom maksimalna koncentracija kortizola nakon stimulacije kosintropinom iznosi manje od 18.5

$\mu\text{g/dL}$  ( $500 \text{ nmol/L}$ ). Nasuprot tome, kod svih kritično obolelih pacijenata sa relativno normalnim koncentracijama serumskih protein, maksimalna kosintropinom stimulirana koncentracija kortizola je iznosila preko  $20 \mu\text{g/dL}$  [86]. Međutim, u obe navedene grupe obolelih, koncentracije slobodnog kortizola su bile slične. Na osnovu toga se može očekivati da kod kritično obolelih pacijenata sa koncentracijom albumina preko  $2.5 \text{ g/dL}$  koncentracija kortizola nakon stimulacije kosintropinom bude veća od  $20 \mu\text{g/dL}$ , odnosno prosečno  $32 \mu\text{g/dL}$ . Koncentracija kortizola manja od  $20 \mu\text{g/dL}$  kod ovih pacijenata upućuje na postojanje adrenalne insuficijencije [99].

Još uvek nema dovoljno podataka o upotrebi nisko doznog ( $1 \mu\text{g}$ ) kosintropinskog testa kod teško obolelih pacijenata. Naime, pojedine studije ukazuju na slične vrednosti kortizola dobijene sa ove dve doze kosintropina dok je u drugim studijama pokazano da standardna doza kosintropina daje veći porast koncentracije ukupnog kortizola i da je bolja za procenu adrenalne funkcije [100-103].

Pored testa sa sintetskim ACTH, u proceni integriteta HHA osovine mogu se koristiti test insulinom indukovane hipoglikemije, metiraponski test i CRH test. Test insulinom indukovane hipoglikemije se smatra zlatnim standardom u proceni adrenalne funkcije ali je on u slučaju pacijenata sa teškom bolešću nepraktičan i nije bezbedan. Slično prethodnom testu, metiraponski test je pored komplikovanog izvođenja i nebezbedan, a dobijene rezultate je teško interpretirati kod pacijenata sa teškom bolešću. Hipotenzija je snažan stimulus za aktivaciju HHA osovine kao i za oslobađanje vazopresina. Pojedni autori su u cilju procene adrenalne funkcije kod bolesnika sa teškim bolestima merili ukupne koncentracije kortizola u serumu tokom hipoglikemije. CRH test se koristi za

procenu kako hipofiznog (ACTH) tako i adrenalnog (kortizol) odgovora na ovaj hormon hipotalamusa. Podaci koji se odnose na CRH test su ograničeni. Kod pacijenata sa teškom bolešću obično se dobija snažan odgovor ali bez postojanja podataka o dijagnostičkoj vrednosti ovog testa [104].

#### **1.7.4. Uticaj lekova**

Mnogi lekovi utiču na bazne i / ili kosintropinom stimulisane serumske koncentracije kortizola. U ove lekove spadaju estrogene, ketokonazol, spironolakton, etomidat ili aminoglutatamid. Navedeni lekovi često utiču na proteine plazme koji vezuju steroide (tako estrogen dovodi do povećanja koncentracije transkortina), direktno utiču na sintezu glukokortikoida (npr. ketokonazol, etomidat) ili imaju direktni inhibitorski efekat na sekreciju CRH / ACTH (oralni, dermalni, intraartikularni ili inhalacioni glukokortikoidi). Pojedini lekovi imaju direktni antiglukokortikoidni efekat (npr. RU486) dok drugi imaju glukokortikoidima sličan efekat i na taj način dovode do supresije HHA osovine kao što to čine i glukokortikoidi. Na taj način deluju progestageni agensi kao što je medroksiprogesteron (kratko delujući i depo oblici) i njemu sličan megestrol koji se koristi u lečenju karcinoma dojke i endometrija kao i u lečenju anoreksije. Ovi lekovi imaju glukokortikoidima sličnu aktivnost koja je dovoljna da izazove kliničke stigmatе Kušingovog sindroma u slučaju dugotrajne primene [105]. Primena ovih lekova pre ili tokom teške bolesti može poremetiti funkcionalni integritet HHA osovine i značajno povećati mogućnost nastanka prave adrenalne insuficijencije.

Etomidat je karboksilovani imidazol koji se koristi kao anestetik radi lakšeg izvođenja endotrahealne intubacije [106,107]. Ovaj lek izaziva reverzibilnu inhibiciju enzima 11-hidroksilaze i dovodi do smanjene sekrecije kortizola. Pokazano je da njegova dugotrajna upotreba dovodi do nastanka adrenalne insuficijencije koja je povezana sa povećanom stopom morbiditeta i mortaliteta. Sa endokrinološkog stanovišta najbolje je izbegavati njegovu primenu. Međutim, ukoliko je neophodna primena etomidata u svrhu uvođenja u anesteziju savetuje se primena hidrokortizona tokom 24-36h [99].

#### **1.7.5. Vrsta i težina bolesti**

Tokom akutne faze teške bolesti serumske koncentracije kortizola su proporcionalne stepenu stresa. Ovo se najbolje vidi kod pacijenata sa normalnom adrenalnom funkcijom, i kod kojih su sprovedene hirurške intervencije različite težine i kompleksnosti [108]. Tako su serumske koncentracije kortizola kod pacijenata nakon veće traume bile podjednako visoke kao i kod pacijenata sa sepsom [81]. U studiji Sem i autora, pokazano je da pacijenti sa sepsom imaju širok opseg serumskih koncentracija kortizola, i da dobijene koncentracije ne koreliraju sa težinom bolesti. Naime, pacijenti sa nasumično izmerenom najvećom koncentracijom kortizola imaju najveći stepen mortaliteta [83]. Sa druge strane, kod pacijenata sa sepsom i pacijenata sa traumom pokazane su slične serumske koncentracije kortizola, ali i značajno više vrednosti MIF-a kod pacijenata sa sepsom. Ovo je naročito bilo izraženo u podgrupama obolelih koji su razvili akutni respiratorni distres sindrom i onih koji nisu preživeli. Uz navedeno, pacijenti sa sepsom su imali daleko veće koncentracije serumskih markera zapaljenja kao što su prokalcitonin i C reaktivni protein [89].

Postojanje ili odsustvo glukokortikoidne rezistencije tokom teške bolesti je značajan faktor koji utiče na adrenalnu funkciju generalno kao i na efekte kortizola na nivou tkiva ili ćelija. Trenutno ne postoje precizni podaci koji se odnose na uticaj glukokortikoidne senzitivnosti na adrenalnu sekreciju glukokortikoida tokom različitih teških bolesti. Može se pretpostaviti da pacijenti oboleli od teške bolesti koja je povezana sa rezistencijom na glukokortikoide imaju veće koncentracije glukokortikoida u odnosu na pacijente sa bolestima koje ne dovode do nastanka ove rezistencije [99].

#### **1.7.6. Hronicitet teške bolesti i uticaj na hipotalamo-hipofizno-adrenalnu osovinu**

Smatra se da je sekrecija glukokortikoida tokom teške bolesti proporcionalna stepenu stresa. Sekretorna aktivnost nadbubrega povećana je tokom rane faze teške bolesti uz postepeno smanjenje sekrecije glukokortikoida kako bolest prelazi u subakutnu ili hroničnu fazu. Međutim, većina studija koje su ukazale na smanjenje adrenalne sekrecije glukokortikoida u hroničnim teškim bolestima, zasnivala se na merenju ukupne koncentracije kortizola u serumu. Merenje ukupne koncentracije kortizola ima značajna ograničenja, naročito tokom dugotrajne bolesti koja je često praćena malnutricijom i hipoproteinemijom. Navedeno je u skladu sa činjenicom da je koncentracija slobodnog kortizola povišena tokom celog trajanja teške bolesti [86].

Postoje podaci koji ukazuju da je koncentracija ACTH u plazmi veća tokom rane faze teških bolesti [87], nakon velikih hirurških intervencija, kao i tokom eksperimentalne endotoksemije [109]. Međutim, vremenom koncentracija ACTH počinje da se smanjuje iako serumske koncentracije ukupnog i slobodnog kortizola ostaju povišene. Postojanje



navedene razlike u koncentracijama ACTH i kortizola tokom dugotrajne teške bolesti ukazuje na moguće postojanje drugih faktora koji stimulišu i regulišu sekreciju glukokortikoida kao što su endotelin, ANF, arginin vazopresin i drugi citokini [87].

## **1.8. Alternativni pristupi u proceni adrenalne funkcije**

Obzirom na postojanje značajnih ograničenja koja su prethodno pomenuta, traženi su alternativni pristupi za procenu funkcije HHA osovine kao što je određivanje koncentracije slobodnog serumskog kortizola, koncentracija salivarnog kortizola i merenje koncentracije drugih ACTH zavisnih adrenalnih steroida, kao što su DHEA i DHEA-S.

### **1.8.1. Koncentracija slobodnog serumskog kortizola**

Kako je već pomenuto, određivanje koncentracije slobodnog serumskog kortizola predstavlja najadekvatniji način procene sekrecije glukokortikoida kod pacijenata sa teškom bolešću. Koncentracija slobodnog kortizola u serumu je sedam do deset puta povećana kod pacijenata sa teškom bolešću [86]. Ovako veliki porast koncentracije kortizola se ne može verifikovati ukoliko se meri samo koncentracija ukupnog kortizola. Neslaganje između ukupne i slobodne koncentracije kortizola se najbolje može videti kod pacijenata sa niskim koncentracijama proteina plazme (albumin <2.5 g/dL). Gotovo 40% pacijenata sa teškom bolešću, niskim koncentracijama albumina i normalnom adrenalnom funkcijom, ima niske koncentracije ukupnog serumskog kortizola, a što se može pogrešno protumačiti kao postojanje adrenalne insuficijencije. Kod navedenih pacijenata su nađene povišene vrednosti slobodnog kortizola [99]. Alternativa merenju koncentracije slobodnog kortizola predstavlja izračunavanje indeksa slobodnog kortizola koji se definiše kao odnos

serumske koncentracije kortizola i koncentracije transkortina [110] ili matematičkom jednačinom koja uzima u obzir odnos između ukupnog, vezanog i slobodnog kortizola [98].

### **1.8.2. Koncentracija salivarnog kortizola**

Koncentracija salivarnog kortizola pokazuje snažnu korelaciju sa koncentracijom slobodnog kortizola u plazmi. Merenje baznih i kosintropinom stimuliranih serumskih, ukupnih i slobodnih koncentracije kortizola, kao i koncentracije salivarnog kortizola kod teško obolelih, pokazalo je porast koncentracije salivarnog kortizola koji je bio u korelaciji sa porastom koncentracije slobodnog kortizola [111].

### **1.8.3. Koncentracije drugih ACTH zavisnih adrenalnih steroida: DHEA i DHEA-S**

DHEA predstavlja ACTH zavistan steroid koji može predstavljati marker integriteta adrenalne funkcije, odn. adrenalne insuficijencije kod ne kritično obolelih pacijenata. Pokazano je da normalne koncentracije DHEA-S, korigovane za životnu dob i pol, isključuju mogućnost postojanja adrenalne insuficijencije. Međutim, podaci o koncentraciji DHEA-S kod teško obolelih pacijenata su malobrojni. Tako je pokazano da su serumske koncentracije DHEA povišene dok je koncentracija DHEA-S varijabilna. Tokom stimulacije sintetskim ACTH, pokazano je da su bazne koncentracije DHEA povišene bez daljeg porasta na stimulaciju kosintropinom. Uprkos povišenim koncentracijama DHEA, serumska koncentracija DHEA-S kod ovih pacijenata je bila niža u poređenju sa mladim zdravim osobama. Zbog svega navedenog, merenje serumske koncentracije DHEA-S često ne odražava adrenalnu sekreciju DHEA. Može se pretpostaviti da je razlog ovakve

diskrepance u serumskim koncentracijama DHEA i DHEA-S posledica smanjene aktivnosti enzima sulfotransferaze kod pacijenata sa teškom sepsom [112].

#### **1.8.4. Definisanje normalne adrenalne funkcije tokom teške bolesti**

Pored stresa i varijacija u koncentraciji protein plazme, različiti drugi faktori mogu uticati na koncentraciju ukupnog i slobodnog kortizola tokom teške bolesti. Jedan od faktora je i moguća tkivno specifična rezistencija na kortikosteroide. Zbog toga je neophodno definisati normalne vrednosti kortizola na osnovu podataka dobijenih na teško obolelim pacijentima, a ne na osnovu podataka dobijenih na zdravim dobrovoljcima koji su ispitivani u ambulantnim uslovima. Većina autora se slaže da su vrednosti serumskog kortizola manje od 15 µg/dL kod pacijenta sa teškom bolešću odraz postojanja adrenalne insuficijencije [75]. Iako je navedeno možda tačno kod pacijenta sa normalnom koncentracijom serumskih proteina, ovaj prag bi mogao biti niži kod pacijenta sa ozbiljnom hipoproteinemijom. U tom slučaju je merenje serumske koncentracije slobodnog kortizola daleko značajnije [99].

Za razliku od zdravih, kod kritično obolelih je teško definisati normalne serumske koncentracije slobodnog kortizola [81]. Osnovna bolest predstavlja jedan od faktora koji utiču na koncentracije slobodnog kortizola. Istraživanja su ukazala na bazne koncentracije slobodnog kortizola kod teško obolelih pacijenata koje su bliske ili više od kosintropinom stimulisanih koncentracija kortizola kod zdravih dobrovoljaca, a koji nisu izloženi dodatnom stresu ( $\geq 1.8$  µg/dL). Iz tog razloga nasumično izmerena koncentracija slobodnog kortizola u serumu od 1.8 µg/dL predstavlja prag za identifikaciju pacijenata sa adrenalnom

insuficijencijom tokom teške bolesti. Dodatna stimulacija kosintropinom može biti neophodna kod teško obolelih pacijenta sa nižim koncentracijama kortizola. Obzirom da je kosintropinom stimulirana koncentracija slobodnog kortizola kod teško obolelih pacijenta bila 3.1 µg/dL ili više, preporučeno je da taj nivo bude prag za definisanje normalne kosintropinom stimulirane koncentracije slobodnog kortizola kod teških bolesnika [86].

U svakodnevnom radu može se koristiti određivanje ukupne koncentracije kortizola dok metode za određivanje koncentracije slobodnog kortizola ne postanu dostupnije. U tom slučaju je potrebno u obzir uzeti sva napomenuta ograničenja. Radi procene pouzdanosti izmerenih vrednosti koncentracija ukupnog kortizola može se koristiti koncentracija proteina plazme. Po svemu sudeći, koncentracija albumina od 2.5 g/dL ili manja, ukazuje na značajno smanjenje koncentracije i drugih vezujućih proteina plazme, a što može uticati na izmerene koncentracije kortizola [86].

## **1.9. Koncept relativne adrenalne insuficijencije**

Koncept relativne adrenalne insuficijencije se prvi put pominje u radu Rotvela i saradnika 1991. godine. Navedeni pojam se kasnije razvijao kako bi se definisala grupa pacijenta koji nisu imali faktore rizika ili ranije dokaze za postojanje adrenalne disfunkcije, i čije su serumske koncentracije ukupnog kortizola tokom teške bolesti procenjene kao neadekvatne u odnosu na težinu njihovog zdravstvenog stanja [78,113]. Prevalenca relativne adrenalne insuficijencije iznosi od 20 do 75% kod pacijenta sa sepsom / septičkim šokom, i od 0 do preko 70% kod drugih teško obolelih pacijenta. Značajno je da kod većine ovih pacijenta postoji hipoproteinemija sa niskim koncentracijama transkortina, što su

faktori koji smanjuju izmerene koncentracije kortizola. Pokazano je da septični pacijenti sa neadekvatnim porastom koncentracije kortizola nakon stimulacije kosintropinom (<250 nmol/l) imaju veću stopu mortaliteta (13 od 13 pacijenata) u poređenju sa grupom pacijenta sa sličnom bolešću (6 od 19) i adekvatnim odgovorom kortizola (>250 nmol/L) nakon stimulacije sa ACTH. Zaključeno je da je kosintropinom indukovani porast serumske koncentracije ukupnog kortizola predstavlja značajan prognostički faktor kod ovih pacijenta [78].

Iako ne postoje jasni kriterijumi za definisanje relativne adrenalne insuficijencije, u većini objavljenih radova se koristi definicija koja se pominje u studiji Annane i saradnika sprovedenoj na velikom broju pacijenta sa septičkim šokom. U istraživanju na 299 pacijenta sa septičkim šokom, merene su koncentracije serumskog kortizola nakon stimulacije standardnom dozom (250 µg i. v.) kosintropina. Na osnovu dobijenih vrednosti pacijenti su se karakterisali kao responderi (porast koncentracije kortizola >9 µg/dL) i nonresponderi (porast koncentracije kortizola <9 µg/dL), bez obzira na bazne koncentracije kortizola [114,115].

### **1.10. Citokini u sindromu sistemskog inflamatornog odgovora**

Poznato je da su velike hirurške intervencije, sistemski inflamatorni odgovor na sepsu i velike traume povezane sa nastankom imunosupresije posredovane ćelijskim i humoralnim sistemom [7,116]. Jačina inflamatornog odgovora je individualna i nepredvidiva, što može biti posledica genskih varijacija. Citokini predstavljaju medijatore inflamatornog procesa, odnosno male proteine koji se vezuju za specifične receptore

autokrino, parakrino ili endokrino. Broj otkrivenih citokina je veliki i povećava se iz dana u dan. Još uvek nisu u potpunosti poznati tačni signalni putevi njihovog delovanja kao ni njihova međusobna povezanost. Postoji veliki broj dokaza da su citokini odgovorni za nastanak SIRS-a i da je njihova visoka koncentracija u plazmi povezana sa lošom prognozom. Proces inflamacije je povezan sa oslobađanjem pro i antiinflamatornih citokina. Antiinflamatorni citokini imaju ulogu u lokalizaciji i prevenciji prejakog inflamatornog odgovora. Gubitak lokalne kontrole dovodi do nastanka sistemske inflamacije sa potencijalno katastrofalnim posledicama uključujući SIRS, MODS, šok i smrt [117].

### **1.10.1. Mehanizmi oslobađanja citokina**

Oslobađanje citokina nastaje kao posledica delovanja različitih stimulusa koje čine:

**1.10.1.1. Endotoksin / Lipopolisaharid** - proteinski fragment zida gram negativnih bakterija. Inicijalno se smatralo da je on inicijalni faktor u nastanku SIRS-a. Međutim, istraživanje sprovedeno na pacijentima sa sepsom potvrdilo je postojanje gram negativne bakterijemije u samo 12% slučajeva [118], čime je odbačena tvrdnja da je endotoksemija ključni faktor u nastanku SIRS-a. Studija na pedijatrijskim pacijentima kod kojih je učinjena intervencija kardiopulmonalnog premošćavanja za koju se zna da je povezana sa nastankom SIRS-a, pokazala je da uprkos nađenim povišenim koncentracijama endotoksina, TNF $\alpha$  i IL-8 nakon intervencije, koncentracija endotoksina nije korelirala sa trajanjem intervencije, koncentracijom citokina ili nastankom SIRS / MODS. Nasuprot

tome, koncentracija TNF $\alpha$  i IL-8 korelira sa trajanjem operacije premošćavanja i povezana je sa nastankom SIRS / MODS [119].

**1.10.1.2. Sistem komplementa** - porodica plazma proteaza koje pripadaju urođenom imunskom sistemu. Nakon aktivacije mogu dovesti do degradacije brojnih proteina i aktivirati citokine. Poznato je da su u sepsi povišene koncentracije protein komplementa C3a i C3d, što korelira sa koncentracijom PAI-1 (inhibitor aktivatora plazminogena 1), a obrnuto korelira sa koncentracijom antitrombina III (AT-III). Koncentracije C3a su povezane sa lošim APACHE II skorom i sa smrtnim ishodom. Međutim, koncentracije C3a i C3d ne koreliraju sa koncentracijama TNF $\alpha$  ili IL-6, niti se njihove koncentracije smanjuju nakon lečenja sepse. Pokazan je različit odnos i stepen porasta koncentracije proteina klasičnog sistema komplementa nasuprot alternativnog sistema komplementa kod pacijenta sa sepsom i SIRS-om [116]. Povišene koncentracije su se mogle detektovati i do tri dana pre postavljanja kliničke dijagnoze SIRS-a, iako nije bilo moguće utvrditi vremensku povezanost [116].

**1.10.1.3. Oštećenje nastalo procesom ishemija - reperfuzija.** Pokazan je porast koncentracije TNF $\alpha$  kod pacova nakon tri sata bilateralne ishemije zadnjih ekstremiteta sa dodatnim povećanjem koncentracije nakon jednog sata reperfuzije. Takođe, pokazan je progresivni porast koncentracije IL-6 nakon reperfuzije. Kod pacijenata kod kojih je sprovedena infraingvinalna arterijska rekonstrukcija pokazan je veći porast koncentracije TNF $\alpha$  kao i veći porast propustljivosti sluznice creva kod onih koji su operisani zbog teške ishemije donjih ekstremita u odnosu na one operisane zbog intermitentne klaudikacije

[120]. Ova istraživanja upućuju da oštećenja koja nastaju procesom ishemija - reperfuzija mogu biti potencijalni okidač nastanka SIRS-a [121].

**1.10.1.4. Uloga oksidativnog stresa** - merenje koncentracije plazma sulfhidrilnih grupa kao što je glutation, i  $\alpha$ -tokoferola kod pacijenata sa povredama lečenih u jedinicama intenzivne nege, pokazalo je progresivno pogoršanje redoks statusa sa značajnim porastom koncentracije oksidovanog glutationa u plazmi i većim MODS skorom desetog dana hospitalizacije [119].

### **1.10.2. Proinflamatorni citokini**

Citokini se oslobađaju u kaskadi. Najpre dolazi do oslobađanja TNF $\alpha$  i IL-1 $\beta$  koji dalje stimulišu produkciju drugih proteina. Glavni proinflamatorni citokini su TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 i inflamatorni protein makrofaga 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ). Pokazana je korelacija koncentracije ovih molekula sa mortalitetom nastalim nakon teške bolesti ili povrede [122], uz korelaciju koncentracije TNF $\alpha$  i IL-6 sa smrtnim ishodom obolelih od sepse [123]. Pored navedenih i neki drugi citokini, kao što je IL-18, imaju ulogu u patogenezi inflamatornih oboljenja. Tako se smatra da IL-18 učestvuje u nastanku atopijskog dermatitisa, reumatoidnog artitisa, Stilove bolesti nastale u odraslom dobu, Sjegrenovog sindroma, inflamatornih bolesti creva dok postoje i dokazi da ovaj interleukin igra ključnu ulogu u patogenezi plućnih inflamatornih bolesti kao što su bronhijalna astma i hronična opstruktivna bolest pluća [124].



### 1.10.2.1. Faktor tumorske nekroze $\alpha$

Faktor tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) je protein veličine 17 kDa koga u najvećoj meri proizvode monociti. Infuzija rekombinantnog TNF $\alpha$  kod ljudi dovodi do pojave SIRS-a sa povišenom telesnom temperaturom, hemodinamskom nestabilnošću, leukopenijom, povećanjem koncentracije enzima jete i nastankom koagulopatije [125].

TNF ispoljava svoje efekte preko TNF receptora i brojnih signalnih puteva ćelije. Koji će signalni put biti aktiviran zavisi od brojnih drugih kostimulatora, i intra i ekstracelularnih faktora:

- Stimulacija nuklearnog faktora kappa aktiviranih B ćelija (NF- $\kappa$ B) signalnog puta dovodi do transkripcije antiapoptotičkih faktora uključujući B-ćelijski limfom 2 (Bcl-2) i ćelijski FLICE (FADD-sličan IL-1b-konvertujući enzim)–inhibitorni protein (cFLIP),
- Aktivacija MAPK (*engl. mitogen activated phosphokinases*) puta dovodi do stvaranja proapoptotskih faktora, faktora proliferacije i ćelijske maturacije,
- Aktivacija FADD (*engl. Fas-Associated protein with Death Domain, FADD*) puta izaziva apoptozu.

TNF $\alpha$  ima značajnu ulogu u nastanku i toku SIRS-a. Brojne studije su proučavale efekte parenteralne primene endotoksina i pokazale maksimalni porast koncentracije TNF $\alpha$  u roku od 60-90 minuta [126].

### **1.10.2.2. Interleukin 1**

Interleukin 1 (IL-1) obuhvata dva bliska proteina, IL-1 $\alpha$  i IL-1 $\beta$ , koji deluju preko istog IL-1 receptora. IL-1 sintetišu monociti, neutrofilni kao i druge ćelije. Parenteralna primena IL-1 kod ljudi dovodi do porasta telesne temperature, hemodinamske nestabilnosti, gubitka apetita, opšte slabosti, bolova u zglobovima, glavobolje i neutrofilije. Pokazano je da parenteralna primena endotoksina dovodi do porasta koncentracije IL-1 [126]. Međutim, nema kliničkih studija koje govore o povezanosti IL-1 i SIRS-a.

### **1.10.2.3. Interleukin 6**

Interleukin 6 (IL-6) je snažan medijator povišenja telesne temperature, povećava oslobađanje proteina akutne faze i stimuliše hemotaksu preko TOLL-like receptora. Studije na pacijentima sa teškom sepsom u periodu manjem od 48 sati su pokazale tesnu vezu između povišenih koncentracija IL-6, težine SIRS-a i posledičnog mortaliteta [127].

Na animalnom modelu izazvanih kontaktnih opekotina praćenih intraperitonealnom primenom LPS radi stimulacije SIRS-a, pokazano je da kombinovana primena anti-IL-6 i anti-IL-6R antitela dovodi do značajnog smanjenja procesa inflamacije i mortaliteta. Kod elektivnih kardiohirurških intervencija na ljudima, visoke koncentracije IL-6 nakon intervencije su bile prediktor pogoršanja plućne funkcije [122].

### **1.10.3. Antiinflamatorni citokini**

Antiinflamatorni citokini se proizvode sinhrono sa proinflamatornim citokinima kako bi se obezbedio balans i kontrola inflamatornog procesa. Najznačajniji

antiinflamatorni citokini su IL-10 i IL-13. Pokazana je uloga antiinflamatornih citokina u patogenezi SIRS-a. Tako je pokazan porast koncentracije proinflamatornih citokina (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8) zajedno sa porastom koncentracije antiinflamatornog citokina IL-10. Zanimljivo je da je veza između IL-10 i TNF $\alpha$  bila jača kod pacijenata sa smrtnim ishodom [128].

#### **1.10.3.1. Interleukin 10**

Interleukin 10 (IL-10) je antiinflamatorni citokin koga stvaraju monociti i limfociti, i poseduje plejotropne efekte u imunomodulaciji uključujući nishodnu regulaciju Th1 citokina [TNF $\alpha$ , IL-2, IL-3, interferona- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) i stimulirajućeg faktora granulocit-makrofagnih kolonija (GM-CSF)], redukciju ekspresije antigena glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) klase II, povećavanje vremena preživljavanja B-ćelija i blokiranje NF- $\kappa$ B JAK-STAT (engl. Janus kinase - Signal Transducer and Activator of Transcription) signalnog puta. Kod pacijenta sa SIRS-om pokazana je veća koncentracija TNF $\alpha$  i IL-10 u odnosu na zdrave dobrovoljce. Intraperitonealna aplikacija IL-10 u miševa smanjuje serumski odgovor TNF $\alpha$  na stimulse inflamacije [129].

#### **1.10.3.2. Interleukin 13**

Interleukin 13 (IL-13) je citokin koga stvaraju uglavnom T-helper ćelije. IL-13 indukuje sekreciju IgE od strane B-ćelija, povećava koncentraciju matriks metaloproteaza (MMP) koje smanjuju zapaljenje, i stimuliše proliferaciju limfocita. Studija sprovedena na pacijentima sa SIRS-om lečenim u jedinicama intenzivne nege pokazuje da pacijenti sa sepsom imaju značajno veće koncentracije IL-13 u odnosu na pacijente bez sepse. Porast

koncentracije IL-13 u SIRS-u je proporcionalan koncentraciji TNF $\alpha$  i stepenu leukopenije [126].

#### **1.10.4. Molekularni mehanizmi oslobađanja citokina u SIRS-u**

Pokazano je postojanje višestrukih molekularnih mehanizama koji su uključeni u započinjanje, napredovanje i završavanje SIRS-a.

Hemoksigenaza 1 je uključena u odbrambeni odgovor na oksidativni stres. Pokazano je da smanjuje sintezu TNF $\alpha$  iRNK kao i koncentraciju TNF $\alpha$  u plazmi, smanjuje oštećenje pluća i poboljšava perfuziju organa [130].

Hipoksija inducibilni faktor-1 (HIF-1), jedarni transkripcioni faktor na koga utiču IFN $\gamma$ , TNF i IL-1 $\beta$ , značajan je za ćelijski odgovor na ishemiju [131]. Aktivacija HIF-1 dovodi do povećane ekspresije inducibilne azot oksid sintaze (iNOS) iRNK, iNOS proteina i kao posledicu toga povećano stvaranje endogenog vazodilatatornog molekula azot monoksida (NO). Pokazano je da HIF-1 povećava aktivnost NF $\kappa$ B, stimulišući inflamaciju [132].

NF $\kappa$ B - DNK vezujući protein ima ključnu ulogu u aktivaciji inflamatornih puteva. Kod pacijenata sa sepsom, aktivnost NF $\kappa$ B pokazuje jaku korelaciju sa mortalitetom [133].

### **1.11. Primena glukokortikoida u terapijske svrhe tokom teške bolesti**

Većina objavljenih podataka koji se odnose na primenu različitih doza glukokortikoida kod teško obolelih pacijenta, odnose se na pacijente sa sepsom ili septičkim šokom [113,134], pacijente sa respiratornim distres sindromom [135] kao i na

pacijente sa povredama glave [136]. Opravdanje za primenu glukokortikoida u uslovima snažnog sistemskog inflamatornog odgovora organizma je njihov snažan antiinflamatorni efekat koji se zasniva na inhibiciji sinteze citokina i sprečavanju migracije cirkulišućih ćelija imunskog sistema u tkiva [70]. Drugi potencijalno korisni efekti glukokortikoida se odnose na njihov efekat na kardiovaskularni sistem gde dovode do pojačanja vaskularnog tonusa i odgovora na kateholamine. Smanjen odgovor na kateholamine je čest pratilac septičkog šoka i smatra se da je posledica desenzitizacije ili nishodne regulacije kateholaminskih receptora. Na osnovu toga se pretpostavlja da je pozitivan efekat glukokortikoida posledica njihove sposobnosti da spreče desenzitizaciju  $\beta$  adrenergičkih receptora i dovedu do ushodne regulacije kateholaminskih receptora [137].

Nedavno je sprovedena studija efekata primene hidrokortizona kod teško obolelih intubiranih pacijenta sa relativnom adrenalnom insuficijencijom i uticajem na primenu mehaničke ventilacije. Relativna adrenalna insuficijencija je definisana bazalnim koncentracijama kortizola manjim od 25  $\mu\text{g/dL}$  uz njegov porast nakon stimulacije kosintropinom za manje od 9  $\mu\text{g/dl}$ . Pokazano je da je kod ovih pacijenata primena hidrokortizola smanjila potrebu za mehaničkom ventilacijom, da je mogućnost ekstubacije bila veća kod pacijenta sa adekvatnom adrenalnom funkcijom i kod onih sa adrenalnom insuficijencijom koji su dobijali hidrokortizon, a u odnosu na one koji su dobijali placebo. Kod navedene grupe obolelih terapijska primena hidrokortizona nije uticala na broj bolničkih dana niti na bolnički mortalitet [138].

Klinička istraživanja koja se odnose na primenu glukokortikoida kod pacijenta sa septičkim šokom su dala oprečne rezultate. Ranija klinička istraživanja koja su se odnosila

na primenu farmakoloških doza glukokortikoida pokazala su da njihova primena ne samo da nije efikasna, već može biti i potencijalno štetna [134,139]. U sprovedenim istraživanjima korišćene su manje doze glukokortikoida kod pacijenta sa septičkim šokom, iako suštinski i dalje veće od fizioloških. U istraživanju Annane i saradnika poređen je efekat primene 200 mg i. v. hidrokortizona (50 mg na 6 sati) uz oralnu primenu 0.1 mg fludrokortizona tokom 7 dana, i u odnosu na placebo. Pacijenti su u odnosu na odgovor na kosintropin podeljeni na dve grupe: rispondere (porast koncentracije serumskog kortizola  $>9 \mu\text{g/dL}$ ) i nerespondere (porast koncentracije serumskog kortizola  $<9 \mu\text{g/dL}$ ). Pokazan je povoljan terapijski efekat primene steroida samo kod pacijenata koji su u grupi nerespondera. Vremenski period do ukidanja vazopresorne terapije je bio kraći kod nerespondera koji su dobijali steroide u odnosu na one koji su dobijali placebo. Takođe je pokazano da je srednje vreme do nastanka smrtnog ishoda duže kod nerespondera koji su dobijali steroide u odnosu na one koji su dobijali placebo [113]. Oslanjajući se pre svega na nalaze ove studije, metaanaliza publikacija sa ovom tematikom dala je preporuke da svi pacijenti sa septičkim šokom koji su zavisni od vazopresorne terapije trebaju da dobiju male doze glukokortikoida, nezavisno od njihovog odgovora nakon stimulacije kosintropinom [134].

## **2. Ciljevi istraživanja**

1. Procena odnosa koncentracije inflamatornih citokina, ACTH i odgovora nadbubrega na stimulaciju sa sintetskim ACTH u standardizovanim vremenskim periodima,
2. Određivanje odnosa između navedenih parametara i mortaliteta.

### **3. Materijal i metode**

#### **3.1. Studijska grupa ispitanika**

Pedesetčetiri bolesnika (37 muškaraca i 17 žena) su bila uključena u studiju. Svi praćeni bolesnici su bili upućeni u Kliničko-bolnički centar Bežanijska kosa u Beogradu, a zbog ispoljavanja visokofebrilnog stanja, dispneje i lošeg opšteg stanja. Svi ispitanici su bili kavkaskog porekla, bez anamneze o postojanju maligne bolesti, ili ranijeg lečenja pomoću ketokonazola, etomidata i glukokortikoida.

Posne inicijalnog pregleda, najveći deo bolesnika je primljen u Respiratornu intenzivnu jedinicu (RIJ) KBC Bežanijska kosa. Ukoliko je pacijent inicijalno bio primljen na Odeljenje pulmologije, ubrzo po pogoršanju kliničke slike bio bi prebačen u RIJ na dalje lečenje i praćenje. Na prijemu u RIJ kod svih bolesnika su procenjeni vitalni znaci uključujući procenu stanja svesti, određivanje telesne temperature, sistemskog arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvence. Kod svih bolesnika je potvrđeno postojanje pneumonije.

SIRS je definisan prema ACCP / SCCM Konsenzus konferenciji iz 1992. godine [1] ispunjavanjem dva ili više kriterijuma (procena telesne temperature pomoću Celzijusove skale, određivanjem srčane frekvence i broja respiracija u minuti, i koncentracije leukocita u krvi).



## **3.2. Sakupljanje kliničkih podataka**

**3.2.1. Klinička procena.** Na početku SIRS-a i tokom njegovog trajanja praćene su sledeće varijable: (1) opšte karakteristike bolesnika uključujući starost i pol i datum prijema u RIJ; (2) ozbiljnost bolesti je procenjivana izračunavanjem APACHE II skora koji uključuje određivanje starosti, anamnezu ozbiljne organske insuficijencije ili imunokompromitovanosti, određivanje rektalne temperature, srednje vrednosti arterijskog krvnog pritiska i pulsa, broja respiracija, oksigencije, arterijskog pH, serumskog kalijuma, natrijuma i kreatinina, određivanje hematokrita, broja leukocita i određivanje Glazgovskog skora kome [20]; (3) predikcija mortaliteta se zasnivala na stepenu disfunkcije šest organskih sistema izračunavanog pomoću SOFA skora koji uključuje određivanje broja trombocita, bilirubina, srednje vrednosti arterijskog krvnog pritiska i kreatinina, oksigenacije i Glazgovskog skora kome [21]; (4) potreba za mehaničkom ventilacijom i dužinom njenog trajanja, broja dana provedenih u RIJ, i ishodom SIRS-a („preživio“ ili „nije preživio“). Saturacija kiseonika ( $PO_2$ , kPa) i pH krvi su određivani gasnim analizatorom (ABL 80 flex, RadiometerMedical ApS, Brønshøj, Denmark) kod svih ispitanika prilikom prijema u RIJ iz uzorka krvi dobijenog iz a. radialis. Rektalna temperatura je određivana termometrom sa Celzijusovom skalom, a sistolni i dijastolni arterijski krvni pritisak (mmHg) na kubitalnoj arteriji pomoću živinog manometra. Kod svakog bolesnika je određivana srčana frekvenca i broj respiracija u minuti.

APACHE II skor se iskazuje u poenima od 0 do 71, a viši skor ukazuje na ozbiljnije oboljenje i viši mortalitetni rizik. SOFA skor je korišćen u monitoringu bolesnikovog statusa tokom boravka u RIJ. I APACHE II skor i SOFA skor pružaju procenu ozbiljnosti

blesti i mortaliteta tokom boravka u RIJ, a koja se zasniva na navedenim kliničkim znacima i laboratorijskim vrednostima čime se procenjuju kako akutne tako i hronične bolesti.

**3.2.2. Laboratorijski pokazatelji.** Na prijemu u bolnicu, odnosno pri dijagnozi SIRS-a, sistematski su određivane hematološki i biohemijski parametri, i gasne analize. Uzet je uzorak krvi za određivanje citokina (IL-6, IL-13 i IL-18). Niskodozni ACTH test je izveden kod svih bolesnika odmah po prijemu u RIJ i posle sedam dana.

**3.2.3. Sprovođenje ACTH testa.** Za sprovođenje niskodoznog ACTH testa je prvo potrebno pripremiti rastvor ACTH. Jedna ampula koja sadrži 1 ml sintetskog analoga prirodnog ACTH (Synacthen, Novartis Pharma Schweiz AG) se rastvara u 500 mL 0.9% NaCl (fiziološki rastvor) tako što se iz ampule navuče rastvor u špric, a zatim se nemenjajući iglu ubrizga u bocu od 500 ml fiziološkog rastvora. Po izvlačenju igle iz boce, cela boca se dobro promućka, zatim pripremi novi špric i nova igla, i iz boce izvuče 2 ml rastvora ACTH [140]. Na prijemu u RIJ bolesnicima je plasiran kateter u antekubitalnu venu i svim bolesnicima je uzet uzorak krvi za određivanje standardnih biohemijskih analiza, kortizola i ACTH. Bolesnicima su uzeta dva bazna uzorka krvi: uzorak od 5 mL krvi za određivanje kortizola i još jedan uzorak od 5 mL u epruvetu sa etilendiamintetraacetatom (ethylenediaminetetraacetate, EDTA) na hladnom, za određivanje ACTH. Zatim je u venu ubrizgano 2 ml rastvora ACTH. Posle 15, 30 i 60 minuta je uzeta po jedna epruveta krvi za određivanje kortizola, a sve navedene epruvete su obeležene imenom bolesnika. Svi uzorci krvi su centrifugirani i serum u slučaju kortizola, odnosno plazma u slučaju ACTH su se čuvali na  $-20^{\circ}\text{C}$  do momenta određivanja.

Studijski protokol je odobren od Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu, i dobijen je pisani pristanak od bolesnika ili rodbine.

#### **3.2.4. Eseji**

Serumski natrijum (mmol/L) je određivan ISE metodom (Roche Hitachi, Cobas 6000 analyzer, Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) sa koeficijentom varijacije (CV) 0.49-0.69%. Serumski kalijum (mmol/L) je određivan ISE metodom sa CV 0.65-0.75%. Kreatinin ( $\mu\text{mol/L}$ ) u serumu je određivan Creatinine Jaffe gen 2 metodom sa CV 1.3-2.8%, a ukupni bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ ) u serumu je određivan kolorimetrijskom metodom sa CV 1.2-3.9%.

Parametri krvne slike su određivani iz pune krvi na hematološkom analajzeru (Pentra DX Nexus-Horiba Medical, Montpellier, France). CV za hematokrit (L/L) je iznosio 1.15%, za ukupan broj leukocita ( $10^9/\text{L}$ ) je iznosio 2.72%, a za trombocite ( $10^9/\text{L}$ ) je iznosio 1.77-2.59%.

IL-6 (pg/mL) je određivan ELISA metodom (Human IL-18 Instant ELISA, eBioscience, Affymetrix, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) uz senzitivnost metode od 2 pg/mL. IL-13 (pg/mL) je određivan ELISA metodom (Human IL-13 Instant ELISA, eBioscience, Affymetrix, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) uz senzitivnost metode od 4 pg/mL. IL-18 (pg/mL) je određivan ELISA metodom (Human IL-18 Instant ELISA, eBioscience, Affymetrix, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria) uz senzitivnost metode 9.2 pg/mL, i sa intraesej CV od 3-10% i interesej CV od 2-11.1%.

Kortizol (nmol/L) je određivan imunoesejem (Elecsys Cortisol II assay, Cobas e411 analyzer, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) sa intraesej CV od 1.8-7.1% i interesej CV od 2.7-12.7%. ACTH (ng/dL) je određivan imunoesejem (Elecsys ACTH assay, Cobas e411 analyzer, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) sa intraesej CV od 2.0-2.9% i interesej CV od 2.4-5.4%.

### **3.3. Statistička analiza**

Statistička obrada je sprovedena korišćenjem R, Vienna, Austria (<https://www.R-project.org/>). Za poređenje među grupama korišćen je Studentov t test za dva nezavisna uzorka za parametarske podatke i  $\chi^2$  test za neparametarske podatke i binomne varijable. Korelacije između varijabli su procenjivane Pearsonovim koeficijentom korelacije. Rezultati su prikazani kao srednje vrednosti  $\pm$  standardna devijacija ( $x \pm SD$ ) za kontinuirane varijable, i kao procenti za binomne varijable.

Negativna binomna regresija je korišćena za modelovanje brožanih varijabli sa velikim brojem nula i za dispergovane varijable ishoda. Ispitali smo predikciju za mogućnost da bolesnik bude na mehaničkoj ventilaciji tokom hospitalizacije u RIJ zasnovanoj na karakteristikama bolesnika na početku SIRS-a, procenjenih na osnovu APACHE II skora i SOFA skora.

Poasonov regresioni model je korišćen za predikciju dana provedenih u RIJ zasnovanoj prema polu i maksimalnom porastu kortizola tokom ACTH stimucionog testa.

Logistička regresiona analiza je korišćena za predikciju ukupnog ishoda (preživeo ili umro). Kalibracija logističkog modela je procenjena pomoću Hosmer-Lemeshow-og testa za procenu važnosti diskrepance između zabeleženog i očekivanog mortaliteta.

Kod svih testova, statistički značajnom je smatrana vrednost  $P < 0.05$ .

## **4. Rezultati**

### **4.1. Kliničke karakteristike studijske grupe**

Kliničke karakteristike cele ispitivane grupe bolesnika i pregled odgovarajućih biohemijskih analiza prikazani su u Tabeli 2. Kod svih bolesnika je potvrđeno postojanje respiratorne infekcije. Od 54 bolesnika, 5 bolesnika (9.6%) umrlo je unutar 7 dana od početka SIRS-a i lečenja u RIJ.

### **4.2. Praćeni biohemijski i hormonski pokazatelji**

Pregled odgovarajućih biohemijskih i hormonskih analiza prikazan je u Tabeli 3. Analizirane su bazalne vrednosti ACTH i kortizola, kao i vrednosti kortizola u svakoj vremenskoj tački ACTH testa. Bazalne koncentracije ACTH se nisu razlikovale u vreme prijema u RIJ i na kontroli posle 7 dana. Bazalne koncentracije kortizola, i vrednosti kortizola tokom niskodoznog ACTH testa nisu se razlikovale u navedene dve tačke tokom praćenja.

Porast kortizola definisan kao razlika između maksimalnih vrednosti i svakog od vremenskih tačaka merenja se nisu razlikovale između dva testa u razmaku od 7 dana. Od cele grupe analiziranih bolesnika, porast kortizola manji od 250 nmol/L tokom ACTH testa je nađen kod 14 (25.9%) bolesnika pri prvom testiranju, i kod 13 (24%) bolesnika pri testiranju posle 7 dana. Od bolesnika koji su umrli tokom perioda praćenja, porast kortizola manji od 250 nmol/L je nađen kod 3 od 5 ispitanika (60%).

Tabela 2. Kliničke karakteristike cele grupe bolesnika na prijemu u respiratornu intenzivnu negu

<b>Varijabla</b>	
N	54
Starost (godine)	45.25 ± 5.45
Pol	
Muški, N (%)	37 (67.3)
Ženski, N (%)	17 (32.7)
Početak bolesti (dani)	4.25 ± 1.31
Osnovno oboljenje	
Pneumonija, N (%)	48 (92.3)
ARDS, N (%)	3 (5.8)
Sepsa, N (%)	1 (1.9)
PaO <sub>2</sub> (kPa)	9.79 (4.82)
Temperatura (°C)	39.3 (0.81)
Srednji sistolni krvni pritisak (mmHg)	122.65 (23.15)
Srednji dijastolni krvni pritisak (mmHg)	76.3 (15.64)
Srčana frekvenca (broj/minut)	101.98 (21.86)
Respiracije (broj/minut)	25.69 (4.28)
Glazgovska skala kome (poeni)	12.43 (3.08)
APACHE II	
Poeni	15.79 ± 6.16
%	25.19 ± 17.50

SOFA	
Poeni	3.48 ± 2.04
%	11.92 ± 7.93
Mehanička ventilacija	
Da / Ne	9 (16.7) / 45 (83.3)
Trajanje (oboleli na ventilaciji) (dana)	5.14 ± 4.49
Trajanje (cela grupa) (dana)	0.69 ± 2.35
Ishod	
Preživeo, N (%)	49 (90.4)
Umro, N (%)	5 (9.6)

ARDS, acute respiratory distress syndrome; PaO<sub>2</sub>, parcijalni pritisak kiseonika; APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; SOFA, sequential organ failure assessment

Na prijemu u RIJ, dobijene su značajne korelacije između bazne vrednosti kortizola i APACHE II skora izraženog u poenima ( $r=0.471$ ,  $p=0.0005$ ), bazne vrednosti kortizola i SOFA skora izraženog u poenima ( $r=0.310$ ,  $p=0.028$ ), bazne vrednosti kortizola i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa ( $r=0.825$ ,  $p<0.0001$ ), i bazne vrednosti kortizola i bazne vrednosti ACTH ( $r=0.301$ ,  $p=0.029$ ). Značajna korelacija je dobijena između IL-6 i bazne vrednosti kortizola ( $r=0.519$ ,  $p<0.0001$ ), IL-6 i APACHE skora izraženog u poenima ( $r=0.586$ ,  $p<0.0001$ ), i IL-6 i SOFA skora izraženog u poenima ( $r=0.342$ ,  $p=0.015$ ).

Nedelju dana po prijemu u RIJ, dobijene su značajne korelacije između bazne vrednosti kortizola i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa ( $r=0.658$ ,  $p<0.0001$ ), i IL-6 i IL-13 ( $r=0.405$ ,  $p=0.009$ ).



Tabela 3. Pregled biokemijskih i hormonskih parametara praćenja cele grupe bolesnika (N=54) na prijemu i posle sedam dana boravka u respiratornoj intenzivnoj jedinici

Varijabla	Dan 0	Dan 7	P
Kalijum (mmol/L)	4.01 (0.52)		
Natrijum (mmol/L)	138.5 (6.1)		
Kreatinin ( $\mu\text{mol/L}$ )	95.81 (48.61)		
Bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ )	16.5 (8.45)		
Hematokrit (L/L)	0.38 (0.09)		
Leukociti ( $10^9/\text{L}$ )	18.58 (3.73)		
Trombociti ( $10^9/\text{L}$ )	282.0 (138.16)		
Interleukin 6 (pg/mL)	67.75 (105.11)	24.49 (34.76)	0.014
Interleukin 13 (pg/mL)	6.2 (3.82)	5.82 (1.06)	0.447
Interleukin 18 (pg/mL)	294.52 (320.55)	245.62 (225.4)	0.028
ACTH (ng/dL)	6.57 $\pm$ 7.08	6.46 $\pm$ 8.72	0.740
Synacthen test			
Kortizol (nmol/L), 0 min	633.22 $\pm$ 362.30	582.62 $\pm$ 341.56	0.503
Kortizol (nmol/L), 15 min	832.25 $\pm$ 311.89	805.35 $\pm$ 328.51	0.677
Kortizol (nmol/L), 30 min	896.57 $\pm$ 305.36	854.54 $\pm$ 313.16	0.629
Kortizol (nmol/L), 60 min	884.69 $\pm$ 339.29	841.11 $\pm$ 363.53	0.944
Maksimalni kortizol (nmol/L) (srednja vrednost)	967.75 $\pm$ 321.02	932.65 $\pm$ 348.12	0.962
$\Delta$ maksimalnog kortizola (nmol/L) (Dan 0–Dan 7)	582.62 $\pm$ 341.56		

ACTH, adrenokortikotropin

### **4.3. Analiza prediktora ishoda**

APACHE II i SOFA skorovi su bili statistički značajno udruženi sa predikcijom mortaliteta kao ishodom tokom hospitalizacije u RIJ, i bili su u onosu sa maksimalnim porastom kortizola tokom ACTH testiranja (Tabela 4 i Tabela 5).

Ženski pol i maksimalni odgovor kortizola tokom ACTH testa prediktovao je trajanje hospitalizacije u RIJ. Naime, veći odgovor kortizola je prediktovao duži boravak u RIJ (Tabela 6). Linearnom regresionom analizom je pokazano da maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 pri prijemu u RIJ i nivoa ACTH ( $p=0.016$ ).

Koncentracija IL-6 na prijemu u RIJ prediktovala je aparata za veštačku ventilaciju kod obolelog. Naime, viša koncentracija IL-6 je prediktovala dužu primenu mehaničke ventilacije (Tabela 7).

U logističkoj regresionoj analizi, APACHE II skor i SOFA skor predstavljali su jedine značajne varijable koje su bile udružene sa predikcijom ukupnog preživljavanja (Tabela 8).

Tabela 4. Negativna binomijalna regresija u predikciji mortaliteta korišćenjem APACHE II skora

<b>Varijabla</b>	<b>Regresioni koeficijent (<math>\beta</math>)</b>	<b>SE</b>	<b>Odnos šansi (95% interval poverenja)</b>	<b>P Vrednost</b>
Koeficijenti tačka modela				
Tačka preseka	-0.085	0.658	-0.130	0.896
Pol (ženski)	-0.734	0.504	-1.467	0.145
Maksimalna razlika kortizola	0.005	0.001	3.286	0.001
Koeficijenti nula-inflatornog modela				
Tačka preseka	19.696	9.285	2.121	0.033
APACHE II	-0.931	0.470	-1.981	0.047

APACHE, acute physiology and chronic health evaluation.

Tabela 5. Negativna binomijalna regresija u predikciji mortaliteta korišćenjem SOFA skora

<b>Varjabla</b>	<b>Regresioni koeficijent (<math>\beta</math>)</b>	<b>SE</b>	<b>Odnos šansi (95% interval poverenja)</b>	<b>P Vrednost</b>
Koeficijenti tačka modela				
Tačka preseka	-0.969	1.010	-0.960	0.337
Pol (ženski)	-4.122	1.352	-3.048	0.002
Maksimalna razlika kortizola	0.004	0.001	3.348	<0.001
Koeficijenti nula-inflatornog modela				
Tačka preseka	7.097	3.090	2.296	0.021
SOFA	-1.335	0.732	-1.824	0.068

SOFA, sequential organ failure assessment

Tabela 6. Poasonov regresioni model u predikciji dužine boravka u respiratornoj intenzivnoj nezi

Varijabla	Regresioni koeficijent ( $\beta$ )	SE	Odnos šansi (95% interval poverenja)	P Vrednost
Tačka preseka	0.986	0.174	5.653	<0.001
Pol (ženski)	-0.106	0.190	-0.559	0.576
Maksimalna razlika kortizola	0.0004	0.0002	1.967	0.049
Uključen APACHE II skor				
Tačka preseka	0.400	0.233	1.715	0.086
Pol (ženski)	-0.087	0.192	-0.453	0.650
Maksimalna razlika kortizola	0.0001	0.0002	0.391	0.696
APACHE II	0.048	0.013	3.594	<0.001
Uključen SOFA skor				
Tačka preseka	0.643	0.207	3.101	0.001
Pol (ženski)	-0.065	0.191	-0.343	0.731
Maksimalna razlika kortizola	0.0002	0.0002	1.237	0.216
SOFA	0.113	0.035	3.149	0.001

APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; SOFA, sequential organ failure assessment.

Tabela 7. Logistička regresiona analiza u predikciji primene mehaničke ventilacije

Varijabla	Regresioni koeficijent ( $\beta$ )	SE	Odnos šansi (95% interval poverenja)	P Vrednost
Tačka preseka	-30.260	22.452	-1.348	0.177
IL-6 Dan 0	0.014	0.005	2.471	0.013
Starost	0.559	0.454	1.233	0.217

IL-6 Dan 0, koncentracija IL-6 na prijemu u RIJ

Tabela 8. Logistička regresiona analiza u predikciji ukupnog ishoda

Varijabla	Regresioni koeficijent ( $\beta$ )	SE	Odnos šansi (95% interval poverenja)	P Vrednost
Uključen APACHE II skor				
Tačka preseka	-6.624	1.817	-3.645	<0.001
APACHE II	0.229	0.079	2.874	0.004
Uključen SOFA skor				
Tačka preseka	-7.579	2.327	-3.256	0.001
SOFA	1.095	0.401	2.729	0.006

APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; SOFA, sequential organ failure assessment.

## 5. Diskusija

Studija delovanja sintetskog ACTH kod bolesnika sa sistemskim inflamtnim sindromom je dizajnirana da se proceni odgovor kortizola u bolesnika koji su primljeni na dalje lečenje u Respiratornu jedinicu intenzivne nege KBC Bežanijska kosa u Beogradu. U nastavku će biti prikazana analiza dobijenih podataka.

Studijom je bilo obuhvaćeno 54 bolesnika, od kojih su 37 bili muškarci, a 17 žene. Posle pregleda na Odeljenju prijema KBC Bežanijska kosa u Beogradu, kod svih bolesnika je verifikovano ozbilno pogoršanje respiratorne funkcije i bili su primljeni na dalje lečenje na Odeljenje pulmologije. Ukoliko se klinička slika ubrzano pogoršavala, bolesnik bi bio premešten na dalje lečenje u Respiratornu intenzivnu jedinicu. Svi bolesnici su imali negativnu anamnezu o prethodnoj primeni ketookonazola, etomidata ili glukokortikoida. Svi bolesnici uključeni u studiju su ispunjavali kriterijume SIRS-a [1]. Naša studija je bila dizajnirana da proceni odgovor kortizola na niskodozni ACTH stimulacioni test u bolesnika koji su bili primljeni u RIJ, a kod kojih je bilo dijagnostikovano tanje SIRS-a zbog respiratorne infekcije. Iako nismo pokazali postojanje razlika u bazalnim vrednostima kortizola ili u bilo kom analiziranom vremenskom periodu tokom ACTH testa, jasno je pokazano postojanje razlike maksimalnog odgovora kortizola ( $\Delta$  max) tokom ACTH testa pre i nakon 7 dana od početka SIRS-a. Pored toga,  $\Delta$  max je prediktovalo trajanje hospitalizacije u RIJ i mortalitet tokom hospitalizacije. Najbolji prediktori dužine

hospitalizacije, mortaliteta, ishoda hospitalizacije kao i ukupnog preživljavanju, pokazali su se APACHE II i SOFA klinički skorovi.

SIRS ukazuje na postojanje kliničkog odgovora na nespecifični insult koji se karakteriše postojanjem dve ili više definisanih varijabli dok sepsa predstavlja SIRS sa dokumentovanom infekcijom. Posledično, sindrom multiple organske disfunkcije (MODS) predstavlja sekvelu SIRS-a i / ili sepse, i nema mogućnost da održi homeostazu bez dodatne kliničke intervencije. Stoga se MODS može prepoznati kao sekvela SIRS-a, i koja predstavlja kontinuitet u razvoju od SIRS-a do početka sepse i progresije u septički šok i multiplu organsku disfunkciju [5], i korelira sa visokim mortalitetom [141]. Međutim, podaci o prevalenci SIRS-a i sepse i dalje nedostaju. Prema nekim od analiza sprovedenih u Evropi, ozbiljna infekcija, pre svega respiratorna, se dijagnostikuje kod 16% bolesnika hospitalizovanih u jedinicama intenzivne nege, i sa smrtnim ishodom kod gotovo pola od navedenog procenta bolesnika [142].

Naša grupa bolesnika se karakterisala respiratornom infekcijom koja je dovela do SIRS-a, i kod svih je lečenje i monitoring nastavljen u Respiratornoj intenzivnoj jedinici. Stopa mortaliteta izračunata iz APACHE II skora je bila viša u odnosu na zabeleženu stopu mortaliteta u našoj studiji. Moguće objašnjenje za ovakvu razliku prediktovane u odnosu na zabeleženu stopu moglo bi se tražiti u dizajnu studije koji je podrazumevao praćenje bolesnika nedelju dana, u odnosu na druge studije u kojima su oboleli praćeni 28 dana od početka SIRS-a ili sepse. Pored navedenog, organska disfunkcija procenjena pomoću SOFA skora, i stopa mortaliteta procenjena pomoću APACHE II skora ukazuju na moguću blažu formu SIRS-a na prezentaciji u našoj grupi bolesnika.

Pokazano je da postoji odnos između povećanog nivoa kortizola u plazmi i povišenog rizika za smrtni ishod u kritično obolelih ljudi. Sa druge strane, nedekvatno niske koncentracije kortizola su takođe u odnosu sa povećanjem mortaliteta [77]. Novi klinički termin 'kritične bolesti uzrokovane kortikosteroidnom insuficijencijom' (CIRCI) se koristi kako bi se definisao niži nivo kortizola u ovom stanju, a u odnosu na nivo kortizola kod zdravih osoba [143]. Dijagnostički kriterijum za postojanje CIRCI u kritično obolelih bolesnika se zasniva na porastu kortizola manjem od 250 nmol/L nakon stimulacije adrenalnog korteksa sa 250 µg ACTH, i koji se smatra diskriminatornim za povećan rizik od smrti [79]. Kod 14 od 54 (25.9%) naša ispitivana i praćena bolesnika zabeležili smo porast kortizola manji od 250 nmol/L tokom ACTH testa. Slična prevalenca relativne adrenalne insuficijencije ili disfunkcije (porast kortizola manji od 25%) je zabeležena u bolesnika u jedinici intenzivne nege koji su imali dijagnoze različite od dijagnoze septičnog šoka [99].

Pored navedenog, u našoj grupi pacijenata, smrtni ishod je zabeležen kod 3 od 5 (60%) bolesnika koji su imali porast kortizola koji je bio manji od 250 nmol/L. Relativno niži smrtni ishod kod naših pacijenata moglo bi se objasniti stanjem SIRS-a u poređenju sa drugim studijama koje su beležile smrtni ishod kod 100% bolesnika sa sepsom [78]. Štaviše,  $\Delta$  max porast kortizola koji smo dobili u našoj studiji daleko nadmašuje tačku preseka porasta kortizola koji je predložen za procenu ishoda kod kritično bolesnih [78,79] i u skladu je sa niskom prevalencom relativne adrenalne insuficijencije kod naših bolesnika sa SIRS-om. U skladu sa navedenim, smatramo da bi se  $\Delta$  max porast kortizola mogao koristiti za predikciju dužine hospitalizacije u jedinici intenzivne nege i predikciji nastanka



smrtnog ishoda. Međutim, kada su APACHE II skor i SOFA skor bili uključeni u odgovarajuću analizu, najbolje su prediktovali dužinu hospitalizacije u RIJ, mortaliteta kao ishoda, i celokupnog preživljavanja, a što je u skladu sa nalazima drugih studija [20,21,144].

Uzimajući u obzir činjenice o promeni u adrenalnoj osovini tokom SIRS-a, potrebno je da se sprovede visoko senzitivni test za dijagnozu disfunkcije adrenalne kore. Pokazano je da niskodozni test sa 1  $\mu\text{g}$  ACTH predstavlja senzitivniji test u otkrivanju blage sekundarne adrenalne insuficijencije, i superioran je u odnosu na standardni stimulacioni test sa 250  $\mu\text{g}$  ACTH [140]. Naši ispitivani bolesnici predstavljaju prirodni model sekundarne adrenalne insuficijencije. Kako se i očekivalo, pokazali smo postojanje nisko normalnih nivoa ACTH u obe vremenske tačke (Dan 0 i Dan 7). Iako je koncentracija kortizola tokom ACTH testa pokazala trend smanjenja posle 7 dana, ona nije dostigla statističku značajnost. Međutim, jedino je maksimalni odgovor kortizola tokom ACTH testa pokazao jasno sniženje na ponovljenom testiranju. Naši rezultati su u skladu sa rezultatima nedavne studije o koncentracijama ACTH i kortizola tokom prvih 7 dana monitoringa u jedinici intenzivne nege. Naime, ACTH je ostao suprimovan u periodu od prijema u jedinicu intenzivne nege i ostao je ispod granice normale tokom prve nedelje kritične bolesti [145]. Iako su naši rezultati pokazali sličan nizak nivo ACTH od početka perioda praćenja, moglo bi se pretpostaviti da je možda ispušteno otkrivanje inicijalnog ACTH odgovora na stres pre samog prijema u jedinicu intenzivne nege, a što je pretpostavka i drugih istraživača [145]. Ovakva mogućnost je nedavno podržana i nalazom

niske oreksinske aktivnosti u hipotalamusu tokom produžene faze kritične bolesti i koja se dešava 48 sati posle inicijalnog porasta ACTH [146].

Pored ACTH, stopa produkcije kortizola kod bolesnika u jedinici intenzivne nege je bila umereno povećana ali bez udvostručavanja kako je zabeleženo kod zdravih osoba [145]. Štaviše, produkcija kortizola je bila povišena samo kod bolesnika sa SIRS-om, a verovatno posredovana delovanjem citokina [1,145]. Shodno tome, niske koncentracije ACTH i visoke koncentracije kortizola ukazuju da drugi mehanizmi osim onih koji zavise od ACTH mogu biti razmatrani tokom kritične bolesti. Ovde se pre svega ubrajaju faktori rasta, kortikotropin-oslobađajući hormon i ACTH povratna sprega, imunski sistem ili karakteristike lokalne vaskularizacije [147,148]. Pored navedenog, mogu biti razmatrane i druge mogućnosti kao što je suprimovan klirens kortizola sa posledičnom povećanom koncentracijom kortizola u plazmi i suprimovanim oslobađanjem ACTH [145].

Analize objavljenih studija su pokazale da se srednja stopa pneumonija kreće od 1% kod hospitalizovanih i ambulantnih pacijenata do 36.5% u bolesnika koji zahtevaju da budu primljeni u jedinice intenzivnog lečenja [149]. Smatra se da su različiti molekularni mehanizmi inflamacije i ćelijskog oštećenja uključeni u patogenezu ozbiljne pneumonije što podrazumeva i mehanizme koji dovode do značajnog povećanja nivoa citokina. Kroz nekoliko studija je pokazano da su serumski IL-6, IL-8 i TNF $\alpha$  uključeni u mehanizam nastanka organskog oštećenja i smrtni ishod usled ozbiljne infekcije [150]. Čini se da je inflamatorni odgovor na lokalnu infekciju kompartmentalizovan kao što je slučaj u pneumoniji [151]. Međutim, u pneumoniji se sreću značajno više sistemske koncentracije

TNFa i IL6 [152]. Međutim, nivo inflamatornih citokina IL-6 i IL-10, i ozbiljnost kliničke prezentacije pneumonije nisu se razlikovali kod bolesnika u različitim dobnim grupama preko 65 godina starosti [153]. Navedeno se može objasniti sniženom produkcijom inflamatornih citokina u starih osoba ili prolongiranim proinflamatornim odgovorom [154].

Pokazano je da pacijenti sa ozbiljnom formom pneumonije, i koji ispunjavaju kriterijume za postojanje SIRS, imaju značajno više nivoe cirkulišućih citokina, IL-6, IL-8 i IL-10 u odnosu na obolele sa blažim oblikom bolesti. Iako kod analizirane grupe bolesnika sa pneumonijom empirijska primena antibiotika nije dovela do kliničkog poboljšanja, trećeg dana od započinjanja SIRS-a verifikovana je značajna redukcija sistemskog inflamatornog odgovora koja se ogledala kroz promenu IL-6 [155]. Navedeno opažanje je u skladu sa kliničkim tokom bolesti kod naše grupe praćenih bolesnika sa SIRS-om uzrokovanim pneumonijom. Naime, i kod naših bolesnika su odmah po prijemu u RIJ empirijski primenjivani antibiotici i zabeležen je značajno niži nivo IL-6 posle 7 dana praćenja.

Uzimajući navedena iskustva u obzir, moglo bi se zaključiti da određivanje serumskog IL-6 predstavlja najosetljiviji i najspecifičniji među indikatorima koji se koriste za procenu odgovora na lečenje. U bolesnika sa pneumonijom, koncentracije IL-6 koreliraju sa ozbiljnošću bolesti kao i sa stepenom multiple organske sistemske slabosti [156]. Takođe je ukazano da koncentracije IL-6 mogu da prediktuju smrtni ishod, razvoj nozokomijalne infekcije i ubrzani nastanak šoka [157]. Naša studija je takođe ukazala na postojanje značajne povezanost IL-6 sa težinom bolesti i ishodom bolesti procenjenih APACHE II skorom i SOFA skorom kod praćene grupe bolesnika. Pored toga, pokazano je

da u praćenoj grupi bolesnika maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 i nivoa ACTH.

IL-13 predstavlja jedan od citokina koji imaju značajnu medijatornu ulogu u nastanku alergijske inflamacije ali i doprinosi nastanku različitih inflamatornih bolesti. Međutim, signalni putevi i precizni molekularni mehanizmi delovanja IL-13 nisu razjašnjeni [158]. U stanju septičnog šoka je pokazano da postoje povišene vrednosti IL-13. Međutim, malo je podataka o ulozi i ponašanju IL-13 u stanju SIRS-a. Studija Socha i saradnika je pokazala da su plazma koncentracije IL-13 povećane u SIRS-u. Međutim, IL-13 je bio znatno viši kod bolesnika sa dijagnozom sepse u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim uzrocima SIRS-a. Izveden je zaključak da je antiinflamatorni citokin IL-13 povišen u ranom SIRS-u, da ispoljava cirkadijarnu ritmičnost, i da može delimično biti moduliran pod dejstvom  $TNF\alpha$  [126]. Antiinflamatorna uloga IL-13 je podržana i inverznim odnosom između IL-13, ukupnog broja leukocita, neutrofila, limfocita i monocita što govori u prilog tezi da IL-13 negativno modulira navedene parametre i omogućava kontraregulatornost nastanku inflamatornog odgovora [159].

Naša ispitivana grupa bolesnika sa SIRS-om je pokazala relativno niske prosečne koncentracije IL-13 koje se nisu razlikovale tokom perioda praćenja. Mogao bi se izvesti zaključak da se kod naših bolesnika radilo o blažim oblicima SIRS-a ili da se propustila faza ranog otkrivanja SIRS-a jer su se bolesnici javljali u bolnicu nešto kasnije nego što je bio slučaj u drugim studijama. Takođe, postoji mogućnost razlike u senzitivnosti različitih komercijalnih eseja, razlici u kinetici IL-13, prisustvu solubilnog receptora i/ili IL-13

antagoniste [126]. Međutim, na značaj IL-13 u nastanku inflamatornog odgovora u našoj grupi ispitivanih bolesnika sa SIRS-om govori i činjenica da je tokom inflamatornog sindroma postojala značajna povezanost sa proinflamatornim IL-6.

IL18 predstavlja produkt makrofaga i smatra se da je snažan aktivator Th1-limfocita putem kostimulacije produkcije interferona gama ( $IFN\gamma$ ) [160]. Pored sinteze  $IFN\gamma$ , IL-18 utiče i na aktivaciju neutrofila i produkciju superoksida. Infiltracija neutrofila i lokalno oslobađanje slobodnih radikala može dovesti do proširenja povrede nakon traume što dalje ima za posledicu brzu aktivaciju monocita i makrofaga [161]. Pored sepse, povećane koncentracije IL-18 su zabeležene u pankreatitisu, hemofagocitnoj histiocitozi, uznapredovaloj tuberkulozi, želudačnom karcinomu, peritonitisu. Tako je pokazano da su kod bolesnika sa peritonitisom koncentracije IL-18 značajno više u onih koji razviju SIRS, i to pre svega kod bolesnika sa pozitivnom hemokulturom i koji razviju organsku insuficijenciju. Zaključeno je da koncentracije peritonealnog IL-18 odražavaju ozbiljnost peritonitisa, ali i da sam peritonitis utiče na sposobnost IL-18 da produkuje  $IFN\gamma$  [162].

Kod bolesnika sa politraumama, glavne komplikacije predstavljaju sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS), sepsa i njihovo dalje pogoršanje u vidu nastanka sindroma multiple organske disfunkcije (MODS). Pokazano je da određivanje koncentracije IL-18 može predstavljati rani marker posttraumatskih komplikacija kao što su sepsa i MODS. Određivanje IL-18 može pomoći u diferencijaciji između SIRS i sepse, i stoga koristiti kao vodič za odluku o najpovoljnijem trenutku za operaciju kod politraume. Predloženo je da bi se koncentracija IL-18 mogla koristiti zajedno sa procenom

kliničkog statusa i drugih inflamatornih markera kao što je IL-6 za predikciju nastanka posttraumatskih komplikacija [163]. U našoj praćenoj grupi bolesnika, IL-18 je pokazao značajan pad posle nedelju dana praćenja u RIJ. Ovakav nalaz, pored izostanka udruženosti sa proinflamatornim citokinom IL-6, može dodatno objasniti iskazanu relativno nisku stopu smrtnosti u našoj grupi bolesnika.

Događaji u sepsi se mogu okarakterisati kao složena i isprepletana mreža interakcija čiji je cilj da pomognu telu da se nosi sa teškim oštećenjem koje izaziva infekcija. Iako ovi događaji imaju za cilj da pomognu obolelom, u pojedinim slučajevima mogu potencijalno izazvati značajna oštećenja koja mogu kulminirati smrtnim ishodom. Zbog toga je predloženo definisanje pet stadijuma septičke kaskade, koji ukoliko nisu adekvatno kontrolisani kompenzatornim antiinflamatornim odgovorom, mogu dovesti do nastanka multiorganske disfunkcije ili otkazivanja [164].

Prvi stadijum predstavlja lokalnu reakciju na mestu infekcije ili oštećenja. Ovaj proinflamatorni odgovor ima za cilj da ograniči inicijalno oštećenje i spreči njegovo dalje širenje. Iz lokalnog odgovora nastaje drugi stadijum, rani kompenzatorni antiinflamatorni odgovor (CARS), sa ciljem održavanja imunološke ravnoteže. Treći stadijum nastaje kada proinflamatorni SIRS odgovor nadvlada CARS i dovede do nastanka progresivne epitelne disfunkcije, povećanja mikrovaskularne propustljivosti i nastanka koagulopatije uz aktivaciju koagulacionog sistema. Četvrti stadijum nastaje kada CARS postane previše jak i dovede do imunosupresije ili paralize imunskog sistema. Preterani CARS može dovesti do predispozicije za nastanak nozokomijalnih ili sekundarnih infekcija koje mogu ponovo pokrenuti ovu septičku kaskadu. Peti stadijum predstavlja multiplu organsku disfunkciju ili

otkazivanje, karakteriše je slom imunskog sistema i trajna disregulacija SIRS i CARS odgovora [164].

U periodu od 1990. do 2000. godine sprovedena su brojna multicentrična, prospektivna, placebo kontrolisana klinička istraživanja kako bi se pronašao najefikasniji način za lečenje sepse. Preklinička i rana klinička ispitivanja su ukazala na molekule čije blokiranje, neutralizacija, uklanjanje ili čak pojačavanje dejstva može poboljšati ishod lečenja pacijenta sa teškom sepsom ili septičkim šokom [10,18,11,165,166]. Složena interakcija događaja u sepsi kao i uticaj vremena do početka lečenja, doze leka i postojećih pridruženih bolesti mogu objasniti nezadovoljavajući efekat novih terapijskih opcija koji su se pokazali kao efikasni u prekliničkim i ranim fazama kliničkih istraživanja [167-169].

Nedavno je ukazano na nedostatke kliničke specifičnosti definicije sepse / SIRS-a. Naglašeno je da postoje tri glavna nedostatka u aktuelnoj definiciji SIRS-a: (1) definicija ima veliku senzitivnost i gotovo svi pacijenti lečeni u jedinicama intenzivne nege ispunjavaju kriterijume definicije, (2) ne postoji diferencijacija između normalnog, korisnog, odgovora organizma i patološkog odgovora koji dovodi do disfunkcije organa i (3) postoji poteškoća u određivanju uloge infekcije u ovom inflamatornom odgovoru uz činjenicu da se sličan inflamatorni odgovor javlja kao posledica delovanja neinfektivnih oštećenja. Zaključeno je da „sepsa predstavlja štetan, nekontrolisan inflamatorni odgovor organizma na infekciju koji dovodi do disfunkcije organa“ [170]. Navedena definicija sepse je slična definiciji teške sepse i teškog SIRS-a donetoj na Konsenzus konferenciji, a koja zahteva postojanje nove ili pogoršavajuće disfunkcije organa kao posledice prejakog inflamatornog odgovora na infekciju ili oštećenje [1].

Danas je jasno da SIRS i teška sepsa predstavljaju ozbiljna zdravstvena stanja koja zahtevaju dosta novca za lečenje, dovode do komplikacija i drastično menjaju život obolelog. Iako je pokazano da značajan deo bolesnika sa sepsom preživi, kod njih je zabeležen povećani stepen mortaliteta u periodu od 8 godina u poređenju sa kontrolnom grupom pacijenta lečenih u jedinicama intenzivne nege koji nisu imali sepsu. Lekari koji rade u jedinicama intenzivne nege se svakodnevno susreću i leče pacijete sa SIRS-om i teškom sepsom, i bore se da ne dođe do nastanka komplikacija. Istovremeno se vrši selekcija pacijenata koji bi imali potencijalnu korist od novih terapijskih procedura [171].

Uprkos tome što trenutno aktuelna definicija SIRS-a i sepse ima značajna ograničenja, ona i dalje predstavlja najfunkcionalnije sredstvo rane identifikacije obolelih i započinjanja lečenja. Nesumnjivo je da će se naša saznanja o mehanizmima i patofiziologiji vremenom proširiti što će rezultovati efikasnijom dijagnozom bolesti uz pomoć specifičnih biohemijskih ili molekularnih tehnologija i na taj način omogućilo ravovremeno dijagnostikovanje i započinjenje lečenja novim terapijskim modalitetima [172].



## 6. Zaključci

1. Ispitana su 54 bolesnika od kojih je 37 bilo muškaraca i 17 žena. Kod svih ispitanika je dijagnostikovano SIRS, i potvrđeno postojanje respiratorne infekcije. Od 54 bolesnika, 5 bolesnika (9.6%) je umrlo tokom sedam dana praćenja SIRS-a u respiratornoj intenzivnoj nezi;
2. Nije pokazano postojanje razlike u porastu kortizola u svakom od vremenskih tačaka praćenje između prvog i drugog testa sprovedenog posle 7 dana;
3. Porast kortizola manji od 250 nmol/L tokom niskodoznog ACTH testa je nađen kod 14 bolesnika (25.9%) prvog dana i kod 13 bolesnika (24%) tokom testa učinjenog posle 7 dana. Kod bolesnika koji su umrli tokom sedmodnevnog praćenja, porast kortizola manji od 250 nmol/L je nađen kod troje od pet bolesnika (60%);
4. Pokazano je postojanje značajne razlike maksimalnog odgovora kortizola između dva niskodozna ACTH testa učinjenih pri dijagnozi SIRS-a i nedelju dana kasnije;
5. Razlika maksimalnih odgovora kortizola ( $\Delta$  max) i klinički skorovi APACHE II i SOFA prediktuju klinički ishod hospitalizacije u respiratornoj intenzivnoj nezi dok klinički skorovi APACHE II i SOFA uspešno prediktuju ukupno preživljavanje;
6. Niskodozni ACTH test predstavlja osetljiv test za otkrivanje specifičnih formi adrenalne insuficijencije koja može biti izazvana stanjem SIRS-a;

7. Pokazano je postojanje značajno nižih vrednosti IL-6 i IL-18 posle nedelju dana praćenja bolesnika u RIJ;
8. Na početku SIRS-a koncentracija IL-6 je značajno korelirala sa koncentracijom baznog kortizola i kliničkim skorovima APACHE II i SOFA;
9. Posle nedelju dana praćenja bolesnika sa SIRS-om u RIJ, IL-6 je pokazao značajnu korelaciju sa koncentracijom IL-13;
10. U praćenoj grupi bolesnika, maksimalni odgovor kortizola zavisio je od interakcije IL-6 i nivoa ACTH.

## 7. Literatura

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
2. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. *Crit Care Clin* 2000; 16: 179-192.
3. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115: 457-469.
4. Parker MM, Parrillo JE. Septic shock. Hemodynamics and pathogenesis. *JAMA* 1983; 250: 3324-3327.
5. Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg* 1997; 84: 920-935.
6. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA* 1995; 273: 117-123.
7. Salvo I, de Cian W, Musicco M, Langer M, Piadena R, Wolfler A, Montani C, Magni E. The Italian SEPSIS study: preliminary results on the incidence and evolution of SIRS, sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 1995; 21 Suppl 2: S244-249.

8. Pittet D, Rangel-Frausto S, Li N, Tarara D, Costigan M, Rempe L, Jebson P, Wenzel RP. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. *Intensive Care Med* 1995; 21: 302-309.
9. Smail N, Messiah A, Edouard A, Descorps-Declere A, Duranteau J, Vigue B, Mimoz O, Samii K. Role of systemic inflammatory response syndrome and infection in the occurrence of early multiple organ dysfunction syndrome following severe trauma. *Intensive Care Med* 1995; 21: 813-816.
10. Bone RC. A critical evaluation of new agents for the treatment of sepsis. *JAMA* 1991; 266: 1686-1691.
11. Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997; 25: 1095-1100.
12. Bone RC. Modulators of coagulation. A critical appraisal of their role in sepsis. *Arch Intern Med* 1992; 152: 1381-1389.
13. Balk RA. Pathogenesis and management of multiple organ dysfunction or failure in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16: 337-352, vii.
14. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1993; 328: 1471-1477.
15. Petrak RA, Balk RA, Bone RC. Prostaglandins, cyclo-oxygenase inhibitors, and thromboxane synthetase inhibitors in the pathogenesis of multiple systems organ failure. *Crit Care Clin* 1989; 5: 303-314.
16. Reinhart K, Wiegand-Lohnert C, Grimminger F, Kaul M, Withington S, Treacher D, Eckart J, Willatts S, Bouza C, Krausch D, Stockenhuber F, Eiselstein J, Daum L, Kempeni J. Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK

- 195F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study. *Crit Care Med* 1996; 24: 733-742.
17. Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987; 317: 653-658.
18. Bone RC, Fisher CJ, Jr., Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. *Crit Care Med* 1989; 17: 389-393.
19. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, Scm/Esicm/Accp/Ats/Sis. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.
20. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829.
21. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22: 707-710.
22. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev* 2000; 21: 55-89.
23. McGaugh JL, Roozendaal B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12: 205-210.

24. Mountjoy KG, Robbins LS, Mortrud MT, Cone RD. The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. *Science* 1992; 257: 1248-1251.
25. Dallman MF, Akana SF, Cascio CS, Darlington DN, Jacobson L, Levin N. Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B. *Recent Prog Horm Res* 1987; 43: 113-173.
26. Rubin RT, Phillips JJ, Sadow TF, McCracken JT. Adrenal gland volume in major depression. Increase during the depressive episode and decrease with successful treatment. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 213-218.
27. Thomas M, Keramidas M, Monchaux E, Feige JJ. Dual hormonal regulation of endocrine tissue mass and vasculature by adrenocorticotropin in the adrenal cortex. *Endocrinology* 2004; 145: 4320-4329.
28. Bicknell AB, Lowry PJ. Adrenal growth is controlled by expression of specific pro-opiomelanocortin serine protease in the outer adrenal cortex. *Endocr Res* 2002; 28: 589-595.
29. Engeland WC. Functional innervation of the adrenal cortex by the splanchnic nerve. *Horm Metab Res* 1998; 30: 311-314.
30. Seidah NG, Benjannet S, Hamelin J, Mamarbachi AM, Basak A, Marcinkiewicz J, Mbikay M, Chretien M, Marcinkiewicz M. The subtilisin/kexin family of precursor convertases. Emphasis on PC1, PC2/7B2, POMC and the novel enzyme SKI-1. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 885: 57-74.
31. Smith GW, Aubry JM, Dellu F, Contarino A, Bilezikjian LM, Gold LH, Chen R, Marchuk Y, Hauser C, Bentley CA, Sawchenko PE, Koob GF, Vale W, Lee KF. Corticotropin releasing factor receptor 1-deficient mice display decreased anxiety, impaired stress response, and aberrant neuroendocrine development. *Neuron* 1998; 20: 1093-1102.

32. Levin N, Roberts JL. Positive regulation of proopiomelanocortin gene expression in corticotropes and melanotropes. *Front Neuroendocrinol* 1991; 12: 1-22.
33. Tanoue A, Ito S, Honda K, Oshikawa S, Kitagawa Y, Koshimizu TA, Mori T, Tsujimoto G. The vasopressin V1b receptor critically regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity under both stress and resting conditions. *J Clin Invest* 2004; 113: 302-309.
34. Gainer H, Yamashita M, Fields RL, House SB, Rusnak M. The magnocellular neuronal phenotype: cell-specific gene expression in the hypothalamo-neurohypophysial system. *Prog Brain Res* 2002; 139: 1-14.
35. Whitnall MH. Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Prog Neurobiol* 1993; 40: 573-629.
36. Sawchenko PE, Brown ER, Chan RK, Ericsson A, Li HY, Roland BL, Kovacs KJ. The paraventricular nucleus of the hypothalamus and the functional neuroanatomy of visceromotor responses to stress. *Prog Brain Res* 1996; 107: 201-222.
37. Palkovits M. Interconnections between the neuroendocrine hypothalamus and the central autonomic system. Geoffrey Harris Memorial Lecture, Kitakyushu, Japan, October 1998. *Front Neuroendocrinol* 1999; 20: 270-295.
38. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 1984; 5: 1-24.
39. Bradbury MJ, Akana SF, Dallman MF. Roles of type I and II corticosteroid receptors in regulation of basal activity in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during the diurnal trough and the peak: evidence for a nonadditive effect of combined receptor occupation. *Endocrinology* 1994; 134: 1286-1296.

40. Watts AG, Tanimura S, Sanchez-Watts G. Corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin gene transcription in the hypothalamic paraventricular nucleus of unstressed rats: daily rhythms and their interactions with corticosterone. *Endocrinology* 2004; 145: 529-540.
41. Raff H. Glucocorticoid inhibition of neurohypophysial vasopressin secretion. *Am J Physiol* 1987; 252: R635-644.
42. Dallman MF, Akana SF, Bhatnagar S, Bell ME, Strack AM. Bottomed out: metabolic significance of the circadian trough in glucocorticoid concentrations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24 Suppl 2: S40-46.
43. Axelrod L. Perioperative management of patients treated with glucocorticoids. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 367-383.
44. De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998; 19: 269-301.
45. Seckl JR. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase in the brain: a novel regulator of glucocorticoid action? *Front Neuroendocrinol* 1997; 18: 49-99.
46. Spencer RL, Young EA, Choo PH, McEwen BS. Adrenal steroid type I and type II receptor binding: estimates of in vivo receptor number, occupancy, and activation with varying level of steroid. *Brain Res* 1990; 514: 37-48.
47. Spencer RL, Kim PJ, Kalman BA, Cole MA. Evidence for mineralocorticoid receptor facilitation of glucocorticoid receptor-dependent regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Endocrinology* 1998; 139: 2718-2726.
48. Levin N, Shinsako J, Dallman MF. Corticosterone acts on the brain to inhibit adrenalectomy-induced adrenocorticotropin secretion. *Endocrinology* 1988; 122: 694-701.



49. Arriza JL, Simerly RB, Swanson LW, Evans RM. The neuronal mineralocorticoid receptor as a mediator of glucocorticoid response. *Neuron* 1988; 1: 887-900.
50. Akana SF, Chu A, Soriano L, Dallman MF. Corticosterone exerts site-specific and state-dependent effects in prefrontal cortex and amygdala on regulation of adrenocorticotropic hormone, insulin and fat depots. *J Neuroendocrinol* 2001; 13: 625-637.
51. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 2003; 24: 151-180.
52. Scheuer DA, Bechtold AG, Shank SS, Akana SF. Glucocorticoids act in the dorsal hindbrain to increase arterial pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H458-467.
53. Cascio CS, Shinsako J, Dallman MF. The suprachiasmatic nuclei stimulate evening ACTH secretion in the rat. *Brain Res* 1987; 423: 173-178.
54. Choi S, Wong LS, Yamat C, Dallman MF. Hypothalamic ventromedial nuclei amplify circadian rhythms: do they contain a food-entrained endogenous oscillator? *J Neurosci* 1998; 18: 3843-3852.
55. Kwak SP, Morano MI, Young EA, Watson SJ, Akil H. Diurnal CRH mRNA rhythm in the hypothalamus: decreased expression in the evening is not dependent on endogenous glucocorticoids. *Neuroendocrinology* 1993; 57: 96-105.
56. Bertagna X, Bertagna C, Luton JP, Husson JM, Girard F. The new steroid analog RU 486 inhibits glucocorticoid action in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 25-28.

57. Young EA, Lopez JF, Murphy-Weinberg V, Watson SJ, Akil H. The role of mineralocorticoid receptors in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3339-3345.
58. Jacobson L, Akana SF, Cascio CS, Shinsako J, Dallman MF. Circadian variations in plasma corticosterone permit normal termination of adrenocorticotropin responses to stress. *Endocrinology* 1988; 122: 1343-1348.
59. Czeisler CA, Johnson MP, Duffy JF, Brown EN, Ronda JM, Kronauer RE. Exposure to bright light and darkness to treat physiologic maladaptation to night work. *N Engl J Med* 1990; 322: 1253-1259.
60. Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2468-2473.
61. Shaper AG, Wannamethee SG, Walker M. Body weight: implications for the prevention of coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus in a cohort study of middle aged men. *BMJ* 1997; 314: 1311-1317.
62. Clayton PJ. Depression subtyping: treatment implications. *J Clin Psychiatry* 1998; 59 Suppl 16: 5-12; discussion 40-12.
63. Ritter S, Watts AG, Dinh TT, Sanchez-Watts G, Pedrow C. Immunotoxin lesion of hypothalamically projecting norepinephrine and epinephrine neurons differentially affects circadian and stressor-stimulated corticosterone secretion. *Endocrinology* 2003; 144: 1357-1367.
64. Grill HJ, Kaplan JM. The neuroanatomical axis for control of energy balance. *Front Neuroendocrinol* 2002; 23: 2-40.

65. Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, Tasker JG. Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci* 2003; 23: 4850-4857.
66. Widmaier EP, Dallman MF. The effects of corticotropin-releasing factor on adrenocorticotropin secretion from perfused pituitaries in vitro: rapid inhibition by glucocorticoids. *Endocrinology* 1984; 115: 2368-2374.
67. De Kloet ER, De Kock S, Schild V, Veldhuis HD. Antigluco-corticoid RU 38486 attenuates retention of a behaviour and disinhibits the hypothalamic-pituitary adrenal axis at different brain sites. *Neuroendocrinology* 1988; 47: 109-115.
68. Viau V, Sawchenko PE. Hypophysiotropic neurons of the paraventricular nucleus respond in spatially, temporally, and phenotypically differentiated manners to acute vs. repeated restraint stress: rapid publication. *J Comp Neurol* 2002; 445: 293-307.
69. Seckl JR, Morton NM, Chapman KE, Walker BR. Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59: 359-393.
70. Turnbull AV, Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1999; 79: 1-71.
71. Jacobson L, Muglia LJ, Weninger SC, Pacak K, Majzoub JA. CRH deficiency impairs but does not block pituitary-adrenal responses to diverse stressors. *Neuroendocrinology* 2000; 71: 79-87.
72. Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ. Interleukin-6 is an essential, corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 9317-9322.

73. Pacak K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 2001; 22: 502-548.
74. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002; 53: 865-871.
75. Cooper MS, Stewart PM. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Engl J Med* 2003; 348: 727-734.
76. Arafah BM, Kailani SH, Neikl KE, Gold RS, Selman WR. Immediate recovery of pituitary function after transsphenoidal resection of pituitary macroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 348-354.
77. Widmer IE, Puder JJ, Konig C, Pargger H, Zerkowski HR, Girard J, Muller B. Cortisol response in relation to the severity of stress and illness. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4579-4586.
78. Rothwell PM, Udawadia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991; 337: 582-583.
79. Annane D, Sebille V, Troche G, Raphael JC, Gajdos P, Bellissant E. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000; 283: 1038-1045.
80. Ho JT, Al-Musalhi H, Chapman MJ, Quach T, Thomas PD, Bagley CJ, Lewis JG, Torpy DJ. Septic shock and sepsis: a comparison of total and free plasma cortisol levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 105-114.
81. Beishuizen A, Thijs LG, Vermes I. Patterns of corticosteroid-binding globulin and the free cortisol index during septic shock and multitrauma. *Intensive Care Med* 2001; 27: 1584-1591.

82. Vaughan GM, Becker RA, Allen JP, Goodwin CW, Jr., Pruitt BA, Jr., Mason AD, Jr. Cortisol and corticotrophin in burned patients. *J Trauma* 1982; 22: 263-273.
83. Sam S, Corbridge TC, Mokhlesi B, Comellas AP, Molitch ME. Cortisol levels and mortality in severe sepsis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60: 29-35.
84. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995; 332: 1351-1362.
85. Bornstein SR, Chrousos GP. Clinical review 104: Adrenocorticotropin (ACTH)- and non-ACTH-mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1729-1736.
86. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350: 1629-1638.
87. Vermes I, Beishuizen A, Hampsink RM, Haanen C. Dissociation of plasma adrenocorticotropin and cortisol levels in critically ill patients: possible role of endothelin and atrial natriuretic hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1238-1242.
88. Tsigos C, Papanicolaou DA, Defensor R, Mitsiadis CS, Kyrou I, Chrousos GP. Dose effects of recombinant human interleukin-6 on pituitary hormone secretion and energy expenditure. *Neuroendocrinology* 1997; 66: 54-62.
89. Beishuizen A, Thijs LG, Haanen C, Vermes I. Macrophage migration inhibitory factor and hypothalamo-pituitary-adrenal function during critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2811-2816.
90. Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schwartz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1028-1032.

91. Charmandari E, Kino T, Chrousos GP. Glucocorticoids and their actions: an introduction. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1024: 1-8.
92. Fingerle-Rowson G, Koch P, Bikoff R, Lin X, Metz CN, Dhabhar FS, Meinhardt A, Bucala R. Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo. *Am J Pathol* 2003; 162: 47-56.
93. Cooper MS, Bujalska I, Rabbitt E, Walker EA, Bland R, Sheppard MC, Hewison M, Stewart PM. Modulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes by proinflammatory cytokines in osteoblasts: an autocrine switch from glucocorticoid inactivation to activation. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1037-1044.
94. Van den Berghe G, de Zegher F, Bouillon R. Clinical review 95: Acute and prolonged critical illness as different neuroendocrine paradigms. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1827-1834.
95. Mueller UW, Potter JM. Binding of cortisol to human albumin and serum: the effect of protein concentration. *Biochem Pharmacol* 1981; 30: 727-733.
96. Clark PM, Neylon I, Raggatt PR, Sheppard MC, Stewart PM. Defining the normal cortisol response to the short Synacthen test: implications for the investigation of hypothalamic-pituitary disorders. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 49: 287-292.
97. Bolland MJ, Chiu WW, Davidson JS, Croxson MS. Heterophile antibodies may cause falsely lowered serum cortisol values. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 643-645.
98. Coolens JL, Van Baelen H, Heyns W. Clinical use of unbound plasma cortisol as calculated from total cortisol and corticosteroid-binding globulin. *J Steroid Biochem* 1987; 26: 197-202.
99. Arafah BM. Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: limitations of current assessment methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3725-3745.

100. Dimopoulou I, Ilias I, Roussou P, Gavala A, Malefaki A, Milou E, Pitaridis M, Roussos C. Adrenal function in non-septic long-stay critically ill patients: evaluation with the low-dose (1 micro g) corticotropin stimulation test. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1168-1171.
101. Dimopoulou I, Tsagarakis S, Douka E, Zervou M, Kouyialis AT, Dafni U, Thalassinou N, Roussos C. The low-dose corticotropin stimulation test in acute traumatic and non-traumatic brain injury: incidence of hypo-responsiveness and relationship to outcome. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1216-1219.
102. Kozyra EF, Wax RS, Burry LD. Can 1 microg of cosyntropin be used to evaluate adrenal insufficiency in critically ill patients? *Ann Pharmacother* 2005; 39: 691-698.
103. Venkatesh B, Mortimer RH, Couchman B, Hall J. Evaluation of random plasma cortisol and the low dose corticotropin test as indicators of adrenal secretory capacity in critically ill patients: a prospective study. *Anaesth Intensive Care* 2005; 33: 201-209.
104. Reincke M, Allolio B, Wurth G, Winkelmann W. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in critical illness: response to dexamethasone and corticotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 151-156.
105. Siminoski K, Goss P, Drucker DJ. The Cushing syndrome induced by medroxyprogesterone acetate. *Ann Intern Med* 1989; 111: 758-760.
106. Wagner RL, White PF, Kan PB, Rosenthal MH, Feldman D. Inhibition of adrenal steroidogenesis by the anesthetic etomidate. *N Engl J Med* 1984; 310: 1415-1421.
107. Absalom A, Pledger D, Kong A. Adrenocortical function in critically ill patients 24 h after a single dose of etomidate. *Anaesthesia* 1999; 54: 861-867.

108. Chernow B, Alexander HR, Smallridge RC, Thompson WR, Cook D, Beardsley D, Fink MP, Lake CR, Fletcher JR. Hormonal responses to graded surgical stress. *Arch Intern Med* 1987; 147: 1273-1278.
109. Bornstein SR, Wolkersdorfer GW, Tauchnitz R, Preas HL, 2nd, Chrousos GP, Suffredini AF. Plasma dehydroepiandrosterone levels during experimental endotoxemia and anti-inflammatory therapy in humans. *Crit Care Med* 2000; 28: 2103-2106.
110. le Roux CW, Chapman GA, Kong WM, Dhillo WS, Jones J, Alaghband-Zadeh J. Free cortisol index is better than serum total cortisol in determining hypothalamic-pituitary-adrenal status in patients undergoing surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2045-2048.
111. Cohen J, Venkatesh B, Galligan J, Thomas P. Salivary cortisol concentration in the intensive care population: correlation with plasma cortisol values. *Anaesth Intensive Care* 2004; 32: 843-845.
112. Arlt W, Hammer F, Sanning P, Butcher SK, Lord JM, Allolio B, Annane D, Stewart PM. Dissociation of serum dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in septic shock. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2548-2554.
113. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G, Chaumet-Riffaud P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288: 862-871.
114. Annane D. [Xigris and corticoids: what are the perspectives for the patient with severe sepsis?]. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003; 22 Spec No 1: 43-45.
115. Annane D. Etomidate and intensive care physicians. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1454.



116. Lissauer ME, Johnson SB, Siuzdak G, Bochicchio G, Whiteford C, Nussbaumer B, Moore R, Scalea TM. Coagulation and complement protein differences between septic and uninfected systemic inflammatory response syndrome patients. *J Trauma* 2007; 62: 1082-1092; discussion 1092-1084.
117. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ* 2003; 10: 45-65.
118. Willatts SM, Speller DC, Winter RJ. Incidence of gram-negative bacteraemia in sepsis syndrome. Implications for immunotherapy. *Anaesthesia* 1994; 49: 751-754.
119. Kretzschmar M, Pfeiffer L, Schmidt C, Schirrmeister W. Plasma levels of glutathione, alpha-tocopherol and lipid peroxides in polytraumatized patients; evidence for a stimulating effect of TNF alpha on glutathione synthesis. *Exp Toxicol Pathol* 1998; 50: 477-483.
120. Edrees WK, Lau LL, Young IS, Smye MG, Gardiner KR, Lee B, Hannon RJ, Soong CV. The effect of lower limb ischaemia-reperfusion on intestinal permeability and the systemic inflammatory response. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25: 330-335.
121. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth* 2010; 2: 161-175.
122. Halter J, Steinberg J, Fink G, Lutz C, Picone A, Maybury R, Fedors N, DiRocco J, Lee HM, Nieman G. Evidence of systemic cytokine release in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 2005; 37: 272-277.
123. Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, Alegre M, Kahn RJ, Dupont E. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest* 1993; 103: 565-575.

124. Kawayama T, Okamoto M, Imaoka H, Kato S, Young HA, Hoshino T. Interleukin-18 in pulmonary inflammatory diseases. *J Interferon Cytokine Res* 2012; 32: 443-449.
125. Spriggs DR, Sherman ML, Frei E, 3rd, Kufe DW. Clinical studies with tumour necrosis factor. *Ciba Found Symp* 1987; 131: 206-227.
126. Socha LA, Gowardman J, Silva D, Correcha M, Petrosky N. Elevation in interleukin 13 levels in patients diagnosed with systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 2006; 32: 244-250.
127. Mokart D, Capo C, Blache JL, Delpero JR, Houvenaeghel G, Martin C, Mege JL. Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer. *Br J Surg* 2002; 89: 1450-1456.
128. Rodriguez-Gaspar M, Santolaria F, Jarque-Lopez A, Gonzalez-Reimers E, Milena A, de la Vega MJ, Rodriguez-Rodriguez E, Gomez-Sirvent JL. Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients. *Cytokine* 2001; 15: 232-236.
129. Sobieski MA, 2nd, Graham JD, Pappas PS, Tatroles AJ, Slaughter MS. Reducing the effects of the systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: can single dose steroids blunt systemic inflammatory response syndrome? *ASAIO J* 2008; 54: 203-206.
130. Kalil AC, Coyle SM, Um JY, LaRosa SP, Turlo MA, Calvano SE, Sundin DP, Nelson DR, Lowry SF. Effects of drotrecogin alfa (activated) in human endotoxemia. *Shock* 2004; 21: 222-229.

131. Albacker T, Carvalho G, Schricker T, Lachapelle K. High-dose insulin therapy attenuates systemic inflammatory response in coronary artery bypass grafting patients. *Ann Thorac Surg* 2008; 86: 20-27.
132. Kan H, Xie Z, Finkel MS. TNF-alpha enhances cardiac myocyte NO production through MAP kinase-mediated NF-kappaB activation. *Am J Physiol* 1999; 277: H1641-1646.
133. Quan ZF, Yang C, Li N, Li JS. Effect of glutamine on change in early postoperative intestinal permeability and its relation to systemic inflammatory response. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1992-1994.
134. Minneci PC, Deans KJ, Banks SM, Eichacker PQ, Natanson C. Corticosteroids for septic shock. *Ann Intern Med* 2004; 141: 742-743.
135. Steinberg KP, Hudson LD, Goodman RB, Hough CL, Lanke PN, Hyzy R, Thompson BT, Ancukiewicz M, National Heart L, Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials N. Efficacy and safety of corticosteroids for persistent acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2006; 354: 1671-1684.
136. Roberts I, Yates D, Sandercock P, Farrell B, Wasserberg J, Lomas G, Cottingham R, Svoboda P, Brayley N, Mazairac G, Laloe V, Munoz-Sanchez A, Arango M, Hartzenberg B, Khamis H, Yutthakasemsunt S, Komolafe E, Ollidashi F, Yadav Y, Murillo-Cabezas F, Shakur H, Edwards P, collaborators Ct. Effect of intravenous corticosteroids on death within 14 days in 10008 adults with clinically significant head injury (MRC CRASH trial): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 1321-1328.

137. Hoen S, Mazoit JX, Asehnoune K, Brailly-Tabard S, Benhamou D, Moine P, Edouard AR. Hydrocortisone increases the sensitivity to alpha1-adrenoceptor stimulation in humans following hemorrhagic shock. *Crit Care Med* 2005; 33: 2737-2743.
138. Huang CJ, Lin HC. Association between adrenal insufficiency and ventilator weaning. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 276-280.
139. Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study G. Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. *N Engl J Med* 1987; 317: 659-665.
140. Zarkovic M, Ciric J, Stojanovic M, Penezic Z, Trbojevic B, Drezgic M, Nesovic M. Optimizing the diagnostic criteria for standard (250-microg) and low dose (1-microg) adrenocorticotropin tests in the assessment of adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3170-3173.
141. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003; 112: 460-467.
142. Kubler A, Durek G, Zamirowska A, Duszynska W, Palysinska B, Gaszynski W, Pluta A. Severe sepsis in Poland--results of internet surveillance of 1043 cases. *Med Sci Monit* 2004; 10: CR635-641.
143. Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M, American College of Critical Care M. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2008; 36: 1937-1949.

144. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Melot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 2001; 286: 1754-1758.
145. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Declercq PE, Vanwijngaerden YM, Spriet I, Wouters PJ, Vander Perre S, Langouche L, Vanhorebeek I, Walker BR, Van den Berghe G. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013; 368: 1477-1488.
146. Deutschman CS, Raj NR, McGuire EO, Kelz MB. Orexinergic activity modulates altered vital signs and pituitary hormone secretion in experimental sepsis. *Crit Care Med* 2013; 41: e368-375.
147. Kanczkowski W, Chatzigeorgiou A, Grossklaus S, Sprott D, Bornstein SR, Chavakis T. Role of the endothelial-derived endogenous anti-inflammatory factor Del-1 in inflammation-mediated adrenal gland dysfunction. *Endocrinology* 2013; 154: 1181-1189.
148. Kanczkowski W, Alexaki VI, Tran N, Grossklaus S, Zacharowski K, Martinez A, Popovics P, Block NL, Chavakis T, Schally AV, Bornstein SR. Hypothalamo-pituitary and immune-dependent adrenal regulation during systemic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 14801-14806.
149. Fine MJ, Smith MA, Carson CA, Mutha SS, Sankey SS, Weissfeld LA, Kapoor WN. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA* 1996; 275: 134-141.
150. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119: 771-778.

151. Dehoux MS, Boutten A, Ostinelli J, Seta N, Dombret MC, Crestani B, Deschenes M, Trouillet JL, Aubier M. Compartmentalized cytokine production within the human lung in unilateral pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 710-716.
152. Glynn P, Coakley R, Kilgallen I, Murphy N, O'Neill S. Circulating interleukin 6 and interleukin 10 in community acquired pneumonia. *Thorax* 1999; 54: 51-55.
153. Kelly E, MacRedmond RE, Cullen G, Greene CM, McElvaney NG, O'Neill SJ. Community-acquired pneumonia in older patients: does age influence systemic cytokine levels in community-acquired pneumonia? *Respirology* 2009; 14: 210-216.
154. Bruunsgaard H, Skinhoj P, Qvist J, Pedersen BK. Elderly humans show prolonged in vivo inflammatory activity during pneumococcal infections. *J Infect Dis* 1999; 180: 551-554.
155. Igonin AA, Armstrong VW, Shipkova M, Lazareva NB, Kukes VG, Oellerich M. Circulating cytokines as markers of systemic inflammatory response in severe community-acquired pneumonia. *Clin Biochem* 2004; 37: 204-209.
156. Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, Boersma WG, Karalus N, Town GI, Lewis SA, Macfarlane JT. Defining community acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax* 2003; 58: 377-382.
157. Moore AR, Clinch D. Underlying mechanisms of impaired visceral pain perception in older people. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52: 132-136.
158. Seyfizadeh N, Seyfizadeh N, Gharibi T, Babaloo Z. Interleukin-13 as an important cytokine: A review on its roles in some human diseases. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2015; 62: 341-378.

159. Collighan N, Giannoudis PV, Kourgeraki O, Perry SL, Guillou PJ, Bellamy MC. Interleukin 13 and inflammatory markers in human sepsis. *Br J Surg* 2004; 91: 762-768.
160. Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S, Yoshimoto T, Nakanishi K. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol* 1998; 70: 281-312.
161. Oberholzer A, Harter L, Feilner A, Steckholzer U, Trentz O, Ertel W. Differential effect of caspase inhibition on proinflammatory cytokine release in septic patients. *Shock* 2000; 14: 253-257; discussion 257-258.
162. Ikuta S, Ono S, Kinoshita M, Tsujimoto H, Yamauchi A, Mochizuki H. Interleukin-18 concentration in the peritoneal fluid correlates with the severity of peritonitis. *Am J Surg* 2003; 185: 550-555.
163. Mommsen P, Frink M, Pape HC, van Griensven M, Probst C, Gaulke R, Krettek C, Hildebrand F. Elevated systemic IL-18 and neopterin levels are associated with posttraumatic complications among patients with multiple injuries: a prospective cohort study. *Injury* 2009; 40: 528-534.
164. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997; 112: 235-243.
165. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006; 355: 1699-1713.
166. Natanson C, Hoffman WD, Suffredini AF, Eichacker PQ, Danner RL. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Intern Med* 1994; 120: 771-783.
167. Bone RC. Why sepsis trials fail. *JAMA* 1996; 276: 565-566.

168. Wenzel RP, Edmond MB. Septic shock--evaluating another failed treatment. *N Engl J Med* 2012; 366: 2122-2124.
169. Suffredini AF, Munford RS. Novel therapies for septic shock over the past 4 decades. *JAMA* 2011; 306: 194-199.
170. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *Lancet* 2013; 381: 774-775.
171. Dreiherr J, Almog Y, Sprung CL, Codish S, Klein M, Einav S, Bar-Lavie Y, Singer PP, Nimrod A, Sachs J, Talmor D, Friger M, Greenberg D, Olsfanger D, Hersch M, Novack V, Group S-I. Temporal trends in patient characteristics and survival of intensive care admissions with sepsis: a multicenter analysis\*. *Crit Care Med* 2012; 40: 855-860.
172. Rivers EP, Jaehne AK, Nguyen HB, Papamatheakis DG, Singer D, Yang JJ, Brown S, Klausner H. Early biomarker activity in severe sepsis and septic shock and a contemporary review of immunotherapy trials: not a time to give up, but to give it earlier. *Shock* 2013; 39: 127-137.



## Spisak skraćenica

AACP - engl. American College Chest Physicians

ACTH – adrenokortikotropni hormon

$\alpha$ -MSH -  $\alpha$ -melanocit-stimulirajući hormon

ANF - atrijalni natriuretski factor

AT-III - antitrombin III

APACHE II – engl. acute physiology and chronic health evaluation

ARDS – akutni respiratorni distres sindrom

Bcl-2 - B-ćelijski limfom 2

c-FLIP – ćelijski FLICE (FADD-sličan IL-1 $\beta$ -konvertujući enzim)-inhibitorski protein

CRH - kortikotropin oslobađajući hormon

DHEA – dehidroepiandrosteron

DHEA-S – dehidroepiandrosteron sulfat

EDTA – engl. ethylenediaminetetraacetate

FADD - engl. Fas-associated protein with death domain

GN-CSF - stimulirajući faktor granulocit-makrofagnih kolonija

GR - glukokortikoidni receptor

HHA - hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina

HIF-1 - hipoksija inducibilni faktor-1

iRNK – informaciona ribonukleinska kiselina

JAK-STAT – engl. Janus kinase - Signal Transducer and Activator of Transcription

IL – interleukin

MIF - faktor migracije makrofaga

MIP-1 $\alpha$  - inflamatorni protein makrofaga 1 $\alpha$

MMP - matriks metaloproteaza

MODS - sindrom multiplog popuštanja organa

MR - mineralokortikoidni receptor

NaCl – natrijum hlorid

NDT – niskodozni ACTH test

NF- $\kappa$ B - nuklearni faktor kappa aktiviranih B ćelija

NO - azot monoksid

NTS - jedro solitarnog trakta

PAI-1 - inhibitor aktivatora plazminogena 1

POMC – proopiomelanokortin

PVN – paraventrikularno-hipotalamuso jedro

SCCM - engl. Society of Critical Care Medicine

SIRS – sindrom sistemskog inflamatornog odgovora

SOFA – engl. sequential organ failure assessment

SON - supraoptičko jedro

TL - TOLL-like receptori

## **Biografija**

Dr Jelica Bjekić Macut je rođena u Beogradu 1963. godine. Medicinski fakultet u Beogradu je završila 1989. godine. Od 1994. godine je stalno zaposlena na Odeljenju endokrinologije KBC Bežanijska kosa. Specijalizaciju iz interne medicine je položila 1996. godine sa odličnim uspehom, od kada obavlja poslove specijaliste interne medicine i načelnik je istog odeljenja. Završila je posle diplomске studije iz endokrinologije na Medicinskom fakultetu u Beogradu i od 2001. godine je nosilac titule magistra medicinskih nauka.

Tokom svoje profesionalne karijere, i kao načelnik Odeljenja endokrinologije KBC Bežanijska kosa, stalno je unapređivala rad i organizaciju endokrinološke službe proširivanjem opsega patologije kojim se odeljenje bavi, razvojem efikasnog ambulantnog i konsultantskog rada. Izlagala je na redovnim stručnim seminarima KBC-a i bila organizator seminara iz endokrinologije. U naučnoistraživačkom pogledu, tokom više godina je deo interdisciplinarnog međunarodnog tima koji se bavi proučavanjem različitih metaboličkih i reproduktivnih poremećaja i sa kojim je objavila više radova u vodećim endokrinološkim časopisima.

Dr Bjekić-Macut je član Endokrinološke sekcije Srpskog lekarskog društva, Evropskog endokrinološkog društva i Evropske asocijacije za proučavanje dijabetesa.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Jelica Bjekić Macut

broj upisa \_\_\_\_\_

### Izjavljujem

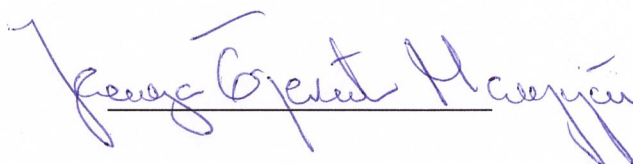
da je doktorska disertacija pod naslovom

### **Uticaj promene reaktivnost hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na ishod kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 18.04.2016.



Jelica Bjekić Macut

Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora \_\_\_Jelica Bjekić Macut\_\_\_\_\_

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program \_\_\_\_\_

Naslov rada \_\_\_ **Uticaj promene reaktivnost hipotalamo-hipofizno-adrenalne  
osovine na ishod kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom**

Mentor \_\_\_Prof. dr Miloš Žarković\_\_\_\_\_

Potpisani \_\_\_Jelica Bjekić Macut\_\_\_\_\_

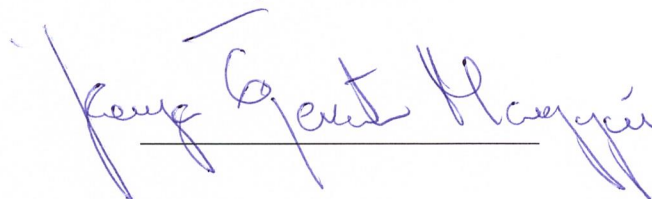
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 18.04.2016.



**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Uticaj promene reaktivnost hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na ishod kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

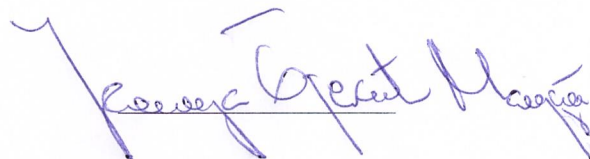
Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 18.04.2016.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rovana Lepet Plavica', written over a horizontal line.