

Kortyzol – nadzór nad ustrojem w fizjologii i stresie

Cortisol – inspection in the physiology and stress

Nikola Musiała¹, Iga Hołyńska-Iwan², Dorota Olszewska-Słonina²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Patobiochemii i Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, CM Uniwersytet Mikołaja Kopernika

²Katedra Patobiochemii i Chemii Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, CM Uniwersytet Mikołaja Kopernika

Streszczenie

Kortyzol, zwany również hormonem stresu, należy do glukokortykosteroidów wydzielanych przez korę nadnerczy. Hormon ten odgrywa znaczącą rolę w utrzymywaniu homeostazy organizmu, także w przebiegu reakcji stresowej. Wpływa na funkcjonowanie wielu narządów i metabolizm związków, takich jak glukoza, kwasy tłuszczowe oraz wydzielanie neurotransmiterów. W przeważającym stopniu kortyzol wpływa na gospodarkę węglowodanową, stymulując glukoneogenezę w wątrobie oraz hamując zużycie glukozy w tkankach obwodowych. Glukokortykosteroid w niewielkim stopniu oddziałuje na elektrolity i minerały, zwiększając resorpcję zwrotną sodu i wody oraz wydalanie potasu z moczem, obniżenie wchłaniania wapnia i fosforu. Kortyzol jest odpowiedzialny za funkcjonowanie układu odpornościowego, gdyż działa przeciwzapalnie i immunosupresyjnie. Funkcje układu sercowo-naczyniowego oraz ośrodkowego układu nerwowego także są podatne na zmiany pod wpływem hormonu. Glukokortykoid jest wydzielany zgodnie z rytmem dobowym pod wpływem ACTH (*adrenocorticotropic hormone*). Do sekrecji hormonu w nadmiarze dochodzi w zespole Cushinga oraz podczas reakcji stresowej. Hiperkortyzolemia jest niebezpieczna dla organizmu, a jej skutki mają niebywale szerokie spektrum, do którego można zaliczyć insulinooporność, otyłość, bezsenność, a nawet depresję. Z tego powodu ważna jest diagnostyka laboratoryjna zmian stężenia kortyzolu, która umożliwi rozpoznawanie, kontrolowanie i ocenę skuteczności leczenia hiperkortyzolemii.

Abstract

Cortisol, also called “the” stress hormone is a glucocorticoid secreted by the adrenal cortex. This hormone plays a significant role in maintaining homeostasis, according to the body’s total stress. Cortisol interferes with many organs, affects glucose and fatty acids metabolism and neurotransmitter secretion. Predominantly, cortisol influences the carbohydrate metabolism, stimulating gluconeogenesis in the liver and inhibiting glucose utilization in peripheral tissues. As it is an element “fight or flight” it also stimulates central nervous system and enhances blood flow. To some extent cortisol influences also the renal handling of electrolytes, namely: increasing sodium resorption, and renal excretion of potassium, calcium and phosphates. Through its anti-inflammatory and immunosuppressive character this glucocorticoid modulates the immune system functioning. Cortisol has a circadian rhythm following ACTH (adrenocorticotropic hormone) secretion. Increased cortisol levels are observed physiologically during stress and pathologically in Cushing’s syndrome. Chronic hypercortisolism is harmful to the body, and its effects present an extremely wide spectrum, including insulin resistance, obesity, insomnia and even depression. Thus, laboratory diagnosis of cortisol level is important for the diagnosis, monitoring and evaluate the effectiveness of hypercortisolism treatment.

Słowa kluczowe: hiperkortyzolemia, oznaczanie kortyzolu, reakcja stresowa;

Key words: hypercortisolism, cortisol measurement, stress reaction;

Wstęp

Glukokortykosteroidy należą do hormonów steroidowych wydzielanych przez warstwę pasmowatą kory nadnerczy, wśród których wyróżnia się kortyzol i kortykosteron. Spośród dwóch wymienionych hormonów, dominującym u człowieka jest kortyzol [1]. Podlega on dobowej sekrecji zależnej od ACTH, maksymalnej w godzinach rannych, a minimalnej późnym wieczorem. Kortyzol, jak również kortykosteron, we krwi w 90-95% związany jest z biał-

kami transportującymi, głównie z CBG (*corticosteroid binding globulin*) [1, 2, 3]. Pozostały wolny kortyzol może wykazywać efekty fizjologiczne poprzez dyfuzję do wnętrza komórek docelowych, następnie wiązanie z receptorem cytoplazmatycznym (GR; *glucocorticoid receptor*) i tworzenie kompleksu, który przemieszcza się w kierunku jądra komórkowego. GR jest białkiem z nadrodziny receptorów jądrowych, który w cytoplazmie występuje w postaci monomeru [4].

Działanie glukokortykosteroidów obejmuje szerokie spektrum i polega na wywieraniu wpływu na gospodarkę węglowodanową, białkową, tłuszczową, wodno-elektrolitową oraz wapniowo-fosforanową [5, 6, 7]. Dodatkowo hormony te działają na układ immunologiczny i krwiotwórczy [8]. Efekty fizjologiczne są skutkiem molekularnego działania kortyzolu, polegającego na regulacji i aktywacji transkrypcji określonych genów oraz modyfikacjach postranskrypcyjnych [2, 7, 9].

Efekty fizjologiczne

Mechanizm molekularny działania kortyzolu

Proces syntezy kortyzolu jest inicjowany poprzez zmianę stężenia cAMP (cykliczny AMP) oraz kinazę A (EC 2.7.11.1, PKA), a także aktywację podjednostki katalitycznej białka wiążącego nukleotydy guaninowe (*guanine nucleotide-binding protein*, GNAS), następującą na skutek pobudzenia receptorów dla ACTH w komórkach warstwy pasmowatej kory nadnerczy. Ostatni etap produkcji hormonu jest zależny od hydroksylazy 11 β (EC 1.14.15.4), pochodzącej z rodziny białek cytochromu P450 – CYP11B1 [3, 10, 11]. Kortyzol jest lipofilową cząsteczką, która z łatwością może przenikać przez błony plazmatyczne komórek docelowych i następnie wiąże się ze swoistymi receptorami cytoplazmatycznymi o wysokim powinowactwie [1, 6, 12, 13]. Po związaniu się hormonu z receptorem dochodzi do aktywacji powstałego kompleksu, od receptora odłącza się białko opiekuńcze hsp90 (*heat shock protein*), czego efektem jest zmiana konformacyjna receptora. Aktywny kompleks przenika następnie przez błonę jądra komórkowego i wiąże się ze swoistym elementem odpowiedzi hormonalnej, będącym fragmentem DNA (GRE; *glucocorticoid response element*). Skutkiem połączenia kompleksu hormon-receptor z GRE jest nasilenie procesu transkrypcji [1, 2, 3, 6].

Mechanizm wydzielania kortyzolu

Mechanizm wydzielania glukokortykosteroidów, a w tym kortyzolu, jest złożony. Proces rozpoczyna się w podwzgórzu, w którym uwalniana jest kortykoliberyna (CRH; *corticotropin-releasing hormone*), hormon stymulujący komórki kortykotropowe przedniego płata przysadki do wydzielania kortykotropiny (ACTH). Sekrecja ACTH jest również, choć w mniejszym stopniu, stymulowana przez wazopresynę [1-3, 6].

Kortykotropina fizjologicznie jest wydzielana zgodnie z rytmem dobowym i pobudza korę nadnerczy do syntezy i sekrecji glukokortykosteroidów, androgenów oraz w mniejszym stopniu mineralokortykosteroidów [1, 2]. Powstałe hormony hamują zwrotnie przysadkę, a także podwzgórze, w efekcie czego maleje wydzielanie CRH oraz poziom ACTH (ryc. 1) [6, 14].

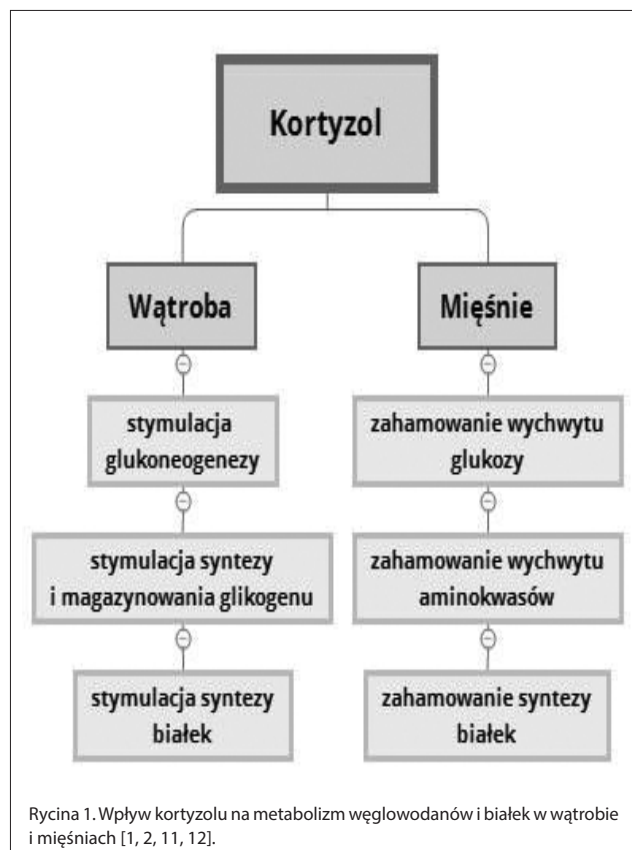
W ostatnich latach udowodniono regulację ekspresji genów kodujących wytwarzanie kortykosteroidów za pomocą microRNAs. Uważa się, że cząsteczki te odpowiedzialne są za ostatni etap ich biosyntezy. Podwyższone stężenia siRNA i mRNA opisywano w tkance poddanej działaniu ACTH. Dodatkowo udowodniono, że microRNA mogą stanowić wspólną drogę regulacji produkcji dla kortyzolu i aldosteronu, co ma znaczenie w rozwoju schorzeń sercowo-naczyniowych [11, 15].

Wpływ na metabolizm węglowodanów i białek

Kortyzol jako hormon kataboliczny powoduje wzrost syntezy białek i wychwytu aminokwasów w wątrobie, dzięki czemu mogą być one wykorzystane w glukoneogenezie [16]. Glukokortykosteroidy pobudzają enzymatyczny proces glukoneogenezy, w wyniku stymulacji karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej (EC 4.1.1.32) i glukozy-6-fosfatazy (EC 3.1.3.9). Efektem tego działania jest zwiększenie wrażliwości wątroby na glukagon poprzez zwiększenie ekspresji receptora GCGR (glucagon receptor) oraz wzmożone uwalnianie substratów dla glukoneogenezy z tkanek obwodowych, wśród których największą rolę odgrywają mięśnie (ryc.1). Nie bez znaczenia pozostaje również hamowanie obwodowego wychwytu glukozy, a co za tym idzie, zmniejszenie zużycia glukozy i wrażliwości tkanek na insulinę. W wątrobie dochodzi ponadto do nasilonej syntezy i magazynowania glikogenu, co jest następstwem wzmożonej aktywności syntetazy glikogenu (EC 2.4.1.11) [4, 14, 15].

Wpływ na tkankę tłuszczową

Działanie kortyzolu na tkankę tłuszczową ma charakter kataboliczny i w przypadku przewlekłe utrzymujących się wysokich stężeń hormonu zostało uznane za patologiczne [2, 7]. Przeważającą konsekwencją jest nasilenie lipolizy, co prowadzi do uwalniania glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych, a więc do wzrostu ich stężenia w osoczu [7]. Efekt ten może być wywierany przez bezpośrednie działanie hormonu lub w wyniku zmniejszonego wychwytu glukozy przez tkankę tłuszczową. W wątrobie, w następstwie zmniejszonego zużycia glukozy, wykorzystywane są wychwycone przez hepatocyty wolne kwasy tłuszczowe [1, 7, 15, 17]. Udowodniono wpływ kortyzolu na otwarcie w adipocytach



kanału wodnego akwaporyny 7 (AQP7), a także na jego wbudowanie w błonę. Dodatkowo kortyzol oddziałuje na aktywację translacji i transkrypcji uruchamiających produkcję podjednostek tego kanału, co zwiększa ryzyko rozwoju zespołu metabolicznego [7].

Wpływ na tkankę kostną i metabolizm wapnia

Homeostaza tkanki kostnej jest utrzymywana przez szereg związków, do których należą m.in. parathormon (PTH), kalcytonina, 1,25-dihydroksycholekalcyferol ($1,25\text{-[OH]}_2\text{D}_3$), glukokortykosteroidy, insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF; *insulin-like growth factor*), transformujący czynnik wzrostu ($\text{TGF-}\beta$; *transforming growth factor* β), oraz czynnik wzrostu fibroblastów (FGF; *fibroblast growth factor*) [14, 18].

Kortyzol bezpośrednio hamuje syntezę kolagenu i białek niekolagenowych, m.in. osteokalcyny, fosfatazy zasadowej (EC 3.1.3.1), białka Gla (MGP; *matrix gla protein*), nasila działanie PTH i $1,25\text{-[OH]}_2\text{D}_3$, więc przewlekła hiperkortyzolemia może przyczyniać się do resorpcji tkanki kostnej [18].

Znaczący wpływ hormon wywiera na metabolizm wapnia oraz fosforu. Kortyzol hamuje ekspresję genów dla białka kalbindyny, co prowadzi do zmniejszenia wchłaniania wapnia i fosforanów w jelitach [18]. Ograniczone wchłanianie wapnia w jelitach prowadzi do obniżenia stężenia tego jonu w osoczu. Konsekwencją jest wtórne, wzmożone wydzielanie PTH, którego rolą jest utrzymanie fizjologicznego stężenia wapnia w osoczu poprzez resorpcję kostną [14]. W przewodzie pokarmowym dochodzi również do ograniczenia wchłaniania fosforanów, zmniejszenia ich stężenia w osoczu i analogiczne jak w przypadku wapnia, zwiększenia wydalania z moczem w wyniku zredukowanej reabsorpcji w cewkach nerkowych [19].

Kortyzol może również bezpośrednio oddziaływać na kośćce. Działanie hormonu polega na hamowaniu dojrzewania oraz aktywności osteoblastów i przesuwaniu dojrzewania multipotencjalnych komórek szpiku linii osteoblastycznej w kierunku innych linii komórkowych, najczęściej komórek tłuszczowych [18].

Wpływ na czynność nerek

Kortyzol wywiera słabe działanie na gospodarkę wodno-elektrolitową, przyczyniając się do zwiększania resorpcji zwrotnej sodu i wody w cewkach nerkowych oraz wzmożonego wydalania potasu z moczem [19, 20]. Hormon wpływa na funkcję nerek poprzez receptory mineralokortykoidowe i glukokortykosteroidowe, dzięki czemu dochodzi do nasilenia przesączania kłębuszkowego. Udowodniono wpływ hiperkortyzolemii na wzrost albuminurii [14, 19].

Wpływ na układ immunologiczny

Wykazywane przez kortyzol działania przeciwzapalne i immunosupresyjne są kolejnym z wielu efektów czynnościowych tego hormonu. Ruch oraz funkcje leukocytów zależy od glukokortykosteroidów. Krążące limfocyty, eozynofile i monocyty są pobudzane do migracji poza naczynia, co skutkuje ich zmniejszoną liczbą we krwi obwodowej [8]. Ponadto wskutek działania kortyzolu zwiększa się liczba wewnątrznaczyniowych leukocytów wielojądrazastych, w wyniku uwalniania ich ze szpiku kostnego oraz wydłużania okresu przeżycia. Przeciwzapalna funkcja kortyzolu objawia się

poprzez zmniejszanie migracji komórek zapalnych do miejsca zapalenia, ograniczenie wytwarzania cytokin prozapalnych, np. TNF (*tumor necrosis factor*), chemokin i innych mediatorów zapalenia [16, 21]. Kolejną funkcją hormonu jest nasilenie apoptozy limfocytów T oraz wstrzymywanie proliferacji limfocytów B i T, poprzez hamowanie uwalniania interleukiny 2.

Kortyzol zwiększa ekspresję genów dla peptydu lipokortyny, która hamuje aktywność enzymu odgrywającego kluczową rolę w wytwarzaniu m.in. prostaglandyn i tromboksanu A_2 – fosfolipazy A_2 (EC 3.1.1.4), a także cyklooksygenazy 2 (EC 1.14.99.1, COX-2) [16].

Wpływ na układ sercowo-naczyniowy

Następstwem działania kortyzolu na układ krążenia jest zwiększenie pojemności wyrzutowej serca oraz wzrost napięcia ściany naczyń obwodowych. Hormon stymuluje hepatocyty do produkcji angiotensynogenu, co w efekcie powoduje aktywację układu renina-angiotensyna-aldosteron [5]. Co więcej, kortyzol może wpływać bezpośrednio na komórki mięśni gładkich naczyń, działając na naczynia skurczowo [5, 17]. Hormon pobudza proliferację komórek oraz zaburza działanie pompy Na/Ca, podnosząc w następstwie wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia. Kortyzol zwiększa również ekspresję receptorów adrenergicznych, wzmagając kurczliwość mięśnia sercowego [11, 17].

Wpływ na OUN

Czynności ośrodkowego układu nerwowego są uzależnione od działania glukokortykosteroidów, które wpływają na zachowanie i funkcje poznawcze, a dodatkowo łatwo przenikają przez barierę krew-mózg [22]. Działanie kortyzolu wywołuje euforię, a także wpływa pozytywnie na koncentrację i czynności poznawcze. W przypadku nadmiaru hormonu pojawiają się zaburzenia psychiczne, osłabienie pamięci oraz wzrost wrażliwości neuronów hipokampa, które mogą ulec zniszczeniu na skutek nadmiernego pobudzenia [1, 9, 17]. Udowodniono, że kortyzol oddziałuje na receptory dopaminergiczne w OUN [6].

Wpływ na gospodarkę hormonalną

Kortyzol wraz z ACTH (adrenocorticotropic hormone) oraz CRH (*corticotropin-releasing hormone*) tworzą układ sprzężeń pomiędzy korą nadnerczy, przysadką i podwzgórzem. Wydzielanie hormonów jest ściśle związane z odpowiedzią na stres, a ich poziom we krwi koreluje z siłą odpowiedzi na bodziec stresowy [1, 3, 11]. Komórki przysadki mózgowej są podatne na działanie kortyzolu, który powoduje hamowanie syntezy i uwalniania TSH (*thyroid-stimulating hormone*) i obniżenie stężenia globuliny wiążącej tyroksynę, czego efektem jest zmniejszone stężenie całkowitej tyroksyny w osoczu. Ograniczona zostaje również obwodowa konwersja T_4 (*thyroxine*) do T_3 (*triiodothyronine*), a nasilona do rT_3 (*reverse triiodothyronine*) [21].

W przypadku czynności gonad kortyzol hamuje wydzielanie gonadotropin zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet, doprowadzając kolejno do obniżenia stężenia testosteronu oraz estrogenów i progestagenów [18, 23].

Udowodniono oddziaływanie kortyzolu na rozwój płodu, przebieg ciąży, a także na organizm ciężarnej poprzez zniesienie lub zmniej-

szczenie ochronnego wpływu estrogenów na receptory w tkankach, takich jak wątroba, centralny układ nerwowy czy serce [9, 24, 25]. Wraz z podwyższeniem stężenia kortyzolu w sytuacji stresowej, wzrasta poziom prolaktyny [9, 23]. Długotrwałe wydzielanie ACTH pociąga za sobą zwiększoną sekrecję androgenów nadnerczowych, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Istotnie słabszy wpływ opisywano dla mineralokortykosteroidów [2, 11].

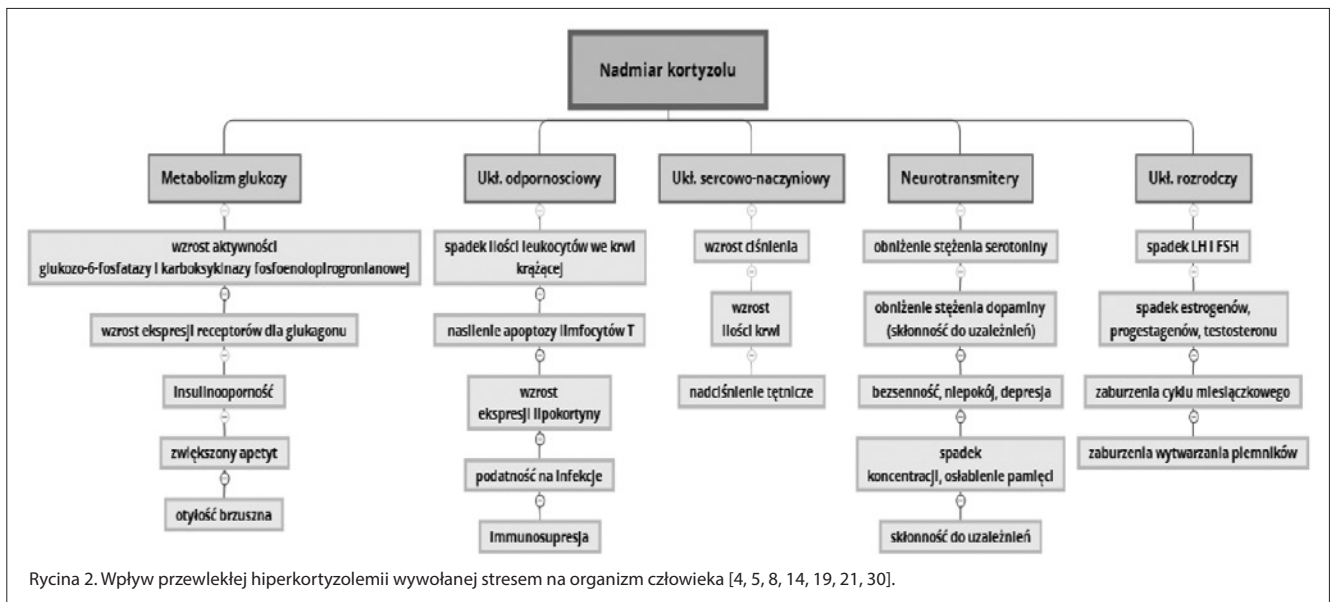
Reakcja stresowa

W medycynie stres jest definiowany jako zaburzenie homeostazy wywołane zmianą środowiska zewnętrznego lub wewnętrznego, czyli tzw. stresem. Za przebieg reakcji stresowej odpowiedzialny jest układ adrenergiczny (SAM; *sympathetic-adrenomedullary*,) oraz oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA; *hypothalamic-pituitary-adrenocortical*) [9, 12, 25, 26].

W przebiegu ostrej reakcji stresowej, w wyniku zadziałania stresora, jako pierwszy aktywowany jest układ SAM, który składa się z części współczulnej autonomicznego układu nerwowego oraz rdzenia nadnerczy, co prowadzi do sekrecji katecholamin: adrenaliny oraz noradrenaliny z rdzenia nadnerczy [3, 23]. Oba hormony działają na receptory adrenergiczne znajdujące się w wielu narządach i umożliwiają dostosowanie organizmu do sytuacji stresowej (tzw. reakcja walki i ucieczki) [26]. Adrenalina i noradrenalina przyczyniają się do natychmiastowego zwiększenia częstotliwości skurczu serca i skierowania przepływu krwi do narządów istotnych np. mózgu [19].

W wyniku uwolnienia neurotransmiterów z ośrodków cholinergicznym i monoaminergicznym dochodzi do stymulacji podwzgórze i sekrecji kortykoliberyny. W przeciwieństwie do układu autonomicznego, konsekwencje pobudzenia osi HPA pojawiają się później, mimo że również jest pobudzana w najwcześniejszym okresie stresu. CRH następnie pobudza przedni płatek przysadki do wydzielania ACTH, przyczyniającego się do uwalniania glukokortykosteroidów z kory nadnerczy, w tym kortyzolu, którego podwyższone stężenia mają negatywny wpływ na organizm. Efekty oddziaływania kortyzolu są zależne od ilości hormonu we krwi i liczby wolnych

receptorów w komórkach docelowych. Niekorzystne działanie glikokortykoidu ma szerokie spektrum (ryc. 2) [1, 26, 27]. W wyniku przewlekłej hiperkortyzolemii zwiększa się apetyt, gromadzi tkanka tłuszczowa i rozwija otyłość brzuszna wraz z insulinoopornością, hiperglikemią oraz hiperlipidemią, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju zespołu metabolicznego [5, 7, 14]. Nadmierna ekspozycja ciężarnej na stres przewlekły predysponuje jej dziecko do wystąpienia zespołu metabolicznego w wieku dojrzałym, ponieważ hiperkortyzolemia pojawiająca się w ciąży powoduje nadmiar glukokortykosteroidów w dorosłości. W warunkach fizjologicznych płód jest chroniony przed nadmiarem hormonów stresu matki dzięki dehydrogenazie 11β-hydroksysteroidowej (EC 1.1.1.146, 11β-HSD2) spełniającej rolę bariery płodowo-łożyskowej. W sytuacji przewlekłego stresu prenatalnego, uwalniane w dużych ilościach przez matkę glukokortykosteroidy, prowadzą do zablokowania działania 11β-HSD2 [9, 25, 26]. Kortyzol ma duży wpływ na zdolność zapamiętywania oraz uczenia się, gdyż działając poprzez receptory NMDA (*N-methyl-D-aspartate receptor*), w wyniku nasilenia cytotoxycznosci glutaminianu, przyczynia się do śmierci neuronów. Prowadzi to do atrofii hipokampa i innych części kory, a w efekcie do zaburzeń koncentracji oraz pamięci [6]. Nadmierne stężenia kortyzolu wywołane długotrwałym stresem przyczyniają się do zaburzeń snu, np. trudności w zasypianiu, częste budzenie się, a także do wystąpienia zespołu depresyjnego, spowodowanego obniżeniem stężeniem serotoniny i atrofią hipokampa [6, 26, 28]. Kolejną konsekwencją nadmiernego wydzielania kortyzolu w warunkach przewlekłego stresu jest upośledzenie czynności układu odpornościowego, a w efekcie zwiększenie podatności na infekcje. Zaburzenia tego typu spowodowane są m.in. przez zahamowanie reaktywności i produkcji limfocytów oraz ich nadmierną apoptozę. Zablokowane zostaje również wytwarzanie i uwalnianie cytokin prozapalnych [29]. Upośledzenie funkcji układu odpornościowego ułatwia namnażanie się bakterii *Helicobacter pylori*. W rezultacie zwiększa się prawdopodobieństwo zachorowania na chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy [22]. Efekt ten jest potęgowany przez zahamowanie uwalniania prostaglandyn, szczególnie na



Rycina 2. Wpływ przewlekłej hiperkortyzolemii wywołanej stresem na organizm człowieka [4, 5, 8, 14, 19, 21, 30].

wczesnym etapie ich rozwoju. Mimo wszystko stres, a co za tym idzie pobudzenie osi SAM oraz HPA, nie przyczynia się do powstawania wrzodów trawiennych, lecz jest czynnikiem ułatwiającym ich rozwój poprzez upośledzenie funkcji obronnych organizmu [22]. Układ rozrodczy także ulega negatywnemu wpływowi stresu, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Wysokie stężenia kortyzolu powodują niewrażliwość przysadki na gonadoliberynę oraz jajników na hormon luteinizujący (LH). Konsekwencją jest ograniczenie uwalniania LH, folikulotropiny (FSH) i estrogenów, a więc wydłużenie fazy folikularnej, cykl miesięczkowy stanie się nieregularny i przedłużony oraz zmniejszy się prawdopodobieństwo wystąpienia owulacji [23, 24].

Analogiczna reakcja na długotrwałą hiperkortyzolemię występuje u mężczyzn. Zahamowanie wydzielania gonadotropin, skutkuje obniżeniem wydzielania testosteronu i zwolnieniem wytwarzania plemników [17, 18].

Przewlekłe skutki aktywacji układu współczulnego objawiają się w postaci zwiększenia ilości krwi krążącej, rozwoju nadciśnienia tętniczego i miażdżycy. Glukokortykosteroidy przyczyniają się do rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego. Pojawiające się w stresie wysokie stężenia kortyzolu, aktywują neurony pnia mózgu, dzięki czemu pobudzany jest układ współczulny, a ponadto zwiększają ekspresję receptorów adrenergicznych w mięśniu sercowym, potęgując działanie adrenaliny i noradrenaliny [11, 30]. Udowodniono także wpływ kortyzolu na generowanie metylacji DNA, co może w konsekwencji prowadzić do wyciszenia ekspresji genów [10].

W ostatnich latach wiele badań poświęcono zmianom ilości generowanych wolnych rodników tlenowych (ROS; *reactive oxygen species*) i azotowych (RNS; *reactive nitrogen species*), następującym pod wpływem kortyzolu. Udowodniono, że hormon ten oddziałuje na syntazę iNOS (EC 1.14.13.39), której zwiększoną aktywność opisywano w tkankach nowotworowych [31]. Długotrwale utrzymująca się hiperkortyzolemia może być powiązana z rozwojem chorób, u podłoża których leży zaburzona równowaga oksydacyjno-redukcyjna. Wydaje się, że zmiana aktywności oksydoreduktaz pociąga za sobą proces generowania ROS i RNS, co sprzyja uszkodzeniom DNA i zapoczątkowuje proces zmian prowadzący do nowotworzenia [31].

Oznaczanie stężenia kortyzolu

Kortyzol najwyższe fizjologiczne stężenia osiąga rano około godziny 8:00 i utrzymuje się do trzech godzin od przebudzenia, najniższe stwierdza się o w godzinach wieczornych, a po południu odnotowuje się obniżenie stężenia o 50% w porównaniu do poziomu hormonu rano [3, 32].

Najczęściej wykorzystywanym materiałem biologicznym do badania poziomu kortyzolu całkowitego (związanego z białkami i w postaci wolnej) jest surowica bądź osocze z heparyną lub EDTA [3]. Otrzymany wynik będzie najbardziej rzetelny, gdy do pobrania

dojdzie rano, najlepiej o godzinie 8:00, a pacjent będzie wypoczęty, niezestresowany oraz na czczo przez co najmniej osiem godzin. Podczas oznaczania rytmu dobowego wydzielania kortyzolu, np. u chorych z hiperkortyzolemią, należy wykonać dwa oznaczenia w godzinach 6:00 – 10:00 oraz dwa w godzinach 18:00 – 22:00. Do oznaczenia stężenia kortyzolu we krwi można wykorzystać metody oparte o reakcje z przeciwciałami monoklonalnymi (chemiluminescencyjne, enzymatyczne, radiometryczne), chromatografię (np. wysokosprawną chromatografię cieczową, high-performance liquid chromatography – HPLC), spektrometrię masową z chromatografią gazową lub cieczową, a także dializę równowagową [33, 34]. Do oznaczania kortyzolu w surowicy komercyjnie wykorzystywane są metody chemiluminescencyjne, z modyfikacją dotyczącą opłaszczonych mikrocząstek. Metody immunoenzymatyczne stosowane są do oznaczania kortyzolu w surowicy, osoczu, ślinie i płynach z jam ciała [3, 35]. Metody wykorzystujące źródła promieniowania stosowane są w laboratoriach badawczych.

W moczu oznaczane jest stężenie kortyzolu wolnego. Dodatkowo można oznaczać metabolity kortyzolu 17-hydroksykortykosteroidy (17-OHKS), z porcji moczu ze zbiórki dobowej. Pacjent powinien na 7 dni przed badaniem odstawić leki steroidowe i ich pochodne, a zbiórka moczu powinna być przeprowadzona w sposób prawidłowy [34].

Oznaczanie wolnego kortyzolu jest przydatne w rozróżnianiu zespołu Cushinga i otyłości prostej, gdyż tylko w przypadku pierwszej choroby nastąpi wzrost stężenia glukokortykosteroidów [15]. Coraz większą popularność zyskują metody, w których poziom wolnego kortyzolu oznaczany jest w ślinie [20, 32, 35]. Pomiar ten jest nieinwazyjny i bezbolesny dla pacjenta, a w przypadku oceny dobowego rytmu wydzielania kortyzolu, możliwość uzyskania wielu próbek jest łatwiejsza aniżeli w przypadku surowicy [20]. Ponadto stężenie hormonu w ślinie jest wystarczająco wysokie, aby uzyskane wyniki można było uznać za rzetelne [35]. Ślina powinna być pobrana na czczo, najlepiej w godzinach rannych, jeżeli przeprowadzany jest jednokrotny pomiar, bez uprzedniego umycia zębów, palenia i spożywania pokarmów przez pacjenta [32, 33, 35, 36].

Ze względu na fakt, że glukokortykosteroidy łatwo przenikają przez barierę krew-mózg, możliwe jest ich oznaczanie w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) [22]. Badanie to jest jednak mocno inwazyjne i niekomfortowe dla pacjenta, dlatego oznaczanie stężenia kortyzolu w PMR nie należy do rutynowych pomiarów, tym bardziej, że równoznaczne z zaburzeniami poziomu glukokortykosteroidów w PMR będą nieprawidłowości w surowicy, której pobranie jest mniej inwazyjne.

Nie stwierdzono przydatności w ustalaniu stężenia kortyzolu w przesiękach i wysiękach.

W tabeli 1 przedstawiono wartości referencyjne dla oznaczeń kortyzolu w godzinach rannych, na czczo, w odniesieniu do pierwszej próbki (w przypadku oznaczania rytmu dobowego) [22].

Tabela 1. Wartości referencyjne stężenia kortyzolu w płynach ustrojowych [22, 24, 32, 34, 35].

	Surowica	Mocz (dobowe wydalenie)	Ślina	Płyn mózgowo-rdzeniowy
Wartości referencyjne	140 – 560 nmol/l (kortyzol całkowity) 12 – 50 nmol/l (kortyzol wolny)	< 50 nmol/dobę	6 – 33 nmol/l	8 – 12 nmol/l

Podsumowanie

Glukokortykosteroidem wydzielanym przez korę nadnerczy w przeważającej ilości jest kortyzol. Hormon ten odgrywa znaczącą rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu, a także w przebiegu reakcji stresowej i z tego względu, na równi z adrenaliną, nazywany jest hormonem stresu [1, 2].

W przeważającym stopniu kortyzol wpływa na gospodarkę węglowodanową, stymulując glukoneogenezę w wątrobie oraz hamując zużycie glukozy w tkankach obwodowych [4, 5]. Za sprawą działania hormonu zwiększana jest synteza białek w wątrobie, a ograniczana w mięśniach. Glukokortykosteroid w niewielkim stopniu oddziałuje na elektrolity, zwiększając resorpcję zwrotną sodu i wody oraz wydalanie potasu z moczem [11]. Wpływa na gospodarkę wapniowo-fosforanową poprzez obniżanie wchłaniania wapnia i fosforu, a w konsekwencji zmniejszenie ich stężenia w osoczu. Kortyzol jest odpowiedzialny za funkcjonowanie układu odpornościowego, gdyż działa przeciwwzapalnie i immunosupresyjnie. Funkcje układu sercowo-naczyniowego oraz ośrodkowego układu nerwowego także są podatne na zmiany pod wpływem hormonu [1, 9]. Ważną rolę kortyzol odgrywa również w przebiegu reakcji stresowej, współdziałając z układem współczulnym. Wspomaga utrzymanie się stresu, lecz w przypadku przewlekłej hiperkortyzolemii jest niezwykle niebezpieczny dla ustroju, prowadząc do zaburzeń psychosomatycznych i/lub rozwoju zespołu metabolicznego [2, 4, 5, 6, 7, 12, 14].

Przez wzgląd na szerokie spektrum wpływu kortyzolu na ustrój człowieka, ważną rolę odgrywa diagnostyka laboratoryjna umożliwiająca ocenę stężenia glikokortykoidu w surowicy lub osoczu, a także w moczu i ślinie. Konieczne jest prowadzenie dalszych badań nad skutkami działania hormonu, sposobami leczenia schorzeń związanych z hiperkortyzolemią i jego powiązań ze zwiększonym występowaniem zespołów chorobowych powiązanych z nadprodukcją wolnych rodników [10, 11, 15, 31]. Z punktu widzenia diagnostyki laboratoryjnej istotne jest rozwijanie metod oznaczania hormonów w materiale pobieranym w sposób nieinwazyjny (np. ślina), w którym oznaczony poziom kortyzolu miałby zastosowanie kliniczne [20, 32, 35, 36].

Piśmiennictwo

1. Lightman S. Rhythms within rhythms: The importance of oscillations for glucocorticoid hormones. in Sassone-Corsi P, Christen Y (editors) *Cham A time for metabolism and hormones* [Internet], Springer, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-27069-2_10.
2. Bertagna X. Effects of chronic ACTH excess on human adrenal cortex. *Front Endocrinol.* 2017; 8: 43, doi: 10.3389/endo.2017.00043.
3. Lee D Y, Kim E, Choi M H. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Rep.* 2015; 48(4): 209-216.
4. Kamba A, Daimon M, Murakami H, et al. Association between higher serum cortisol levels and decreased insulin secretion in general population. *PLOS ONE.* 2016; 18, doi: 10.1371/journal.pone.0166077.
5. Daimon M, Kamba A, Murakami H, et al. Dominance of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis over the renin-angiotensin-aldosterone system is a risk factor for decreased insulin secretion. *Sci Rep.* 2017; 7: 11360, doi: 10.1038/s41598-017-10815-y.
6. Ham S, Lee Y-l, Jo M, et al. Hydrocortisone-induced parkin prevents dopaminergic cell death via CREB pathway in Parkinson's disease model. *Sci Rep.* 2017; 7: 525, doi: 10.1038/s41598-017-00614-w

7. Quesada-López T, Gonzáles-Dávalos L, Piña E, et al. HSD1 and AQP7 sort-term gene regulation by cortisone in 3T3-L1 adipocytes. *Adipocyte.* 2016; 5(3): 298-305, doi: 10.1080/21623945.2016.1187341
8. Cheng T, Dimitrov S, Pruitt C, et al. Glucocorticoid mediated regulation of inflammation in human monocytes is associated with depressive mood and obesity. *Psychoneuroendocrinology.* 2016; 66: 195-204.
9. Barha C K, Salvante K G, Hanna C W, et al. Child mortality, hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and cellular aging in mothers. *PLOS ONE.* 2017; 25 May, doi: 10.1371/journal.pone.0177869
10. Kometani M, Yoneda T, Demura M, et al. Cortisol overproduction results from DNA methylation of CYP11B1 in hypercortisolemia. *Sci Rep.* 2017; 7: 11205, doi: 10.1038/s41598-01-11435-2
11. Robertson S, Diver L A, Alvarez-Madrado S, et al. Regulation of corticosteroidogenic genes by MicroRNAs. *Int J Endocrinol.* 2017, doi: 10.1155/2017/2021903
12. Nagalski A, Kiersztan A. Fizjologia i molekularny mechanizm działania glikokortykoidów. *Postepy Hig Med Dosw.* 2010; 64: 133-145.
13. Rusinek B, Obtulowicz K, Czarnobilska E. Receptor glikokortykosteroidowy i molekularny mechanizm działania glikokortykosteroidów w astmie oskrzelowej. *Alergologia i Immunologia.* 2010; 1-2: 39-43.
14. Asao T, Oki K, Yoneda M, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity is associated with the prevalence of chronic kidney disease in diabetic patients. *Endocrinol J.* 2016; 63(2): 119-126.
15. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2015; 368(16): 1477-88.
16. Hardy R, Doig C, Hussain Z, et al. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 within muscle protects against the adverse effects of local inflammation. *J Pathol.* 2016; 240: 472-483.
17. Baranowska-Bik A, Zgliczyński W. Zespół Cushinga a choroby układu sercowo-naczyniowego. *Post Nauk Med.* 2012; 11: 889-894.
18. Jonczyk P. Symptomatologia zespołu Cushinga. *Endokr Pediatr.* 2014; 1(46): 41-54.
19. Li X, Xiang X, Hu J, et al. Association between serum cortisol and chronic kidney disease in patients with essential hypertension. *Kidney Blood Press Res.* 2016; 41: 384-391.
20. del Liján an Cardoso E, Arregger A, Budd D, et al. Dynamics of salivary cortisol in chronic kidney disease patients at stages 1 through 4. *Clin Endocrinol.* 2016; 85(2): 313-319.
21. Agha-Hosseini F, Shirzad N, Moosavi M. The association of elevated plasma cortisol and Hashimoto's thyroiditis, a neglected part of immune response. *Acta Clin Belg.* 2016; 71(2): 81-85.
22. Holub M, Beran O, Džupová O, et al. Cortisol levels in cerebrospinal fluid correlate with severity and bacterial origin of meningitis. *Crit Care.* 2007; 11: R41.
23. Lupis S, Lermen M, Wolf J. Anger responses to psychosocial stress predict heart rate and cortisol stress responses in men but not women. *Psychoneuroendocrinology.* 2014; 49: 84-95.
24. Wolfram M, Bellingrath S, Kudielka B. The cortisol awakening response (CAR) across the female menstrual cycle. *Psychoneuroendocrinology.* 2011; 36: 905-912.
25. Szydełko J, Szydełko M, Piątek D, et al. Wpływ chronicznego stresu u kobiet w ciąży na kształtowanie się zachowań żywieniowych u ich potomstwa w życiu postnatalnym. *Medical Review.* 2016; 4(1): 83-92.
26. Uszyński M. Stres i antystres – patomechanizm i skutki zdrowotne. Wrocław: MedPharm Polska; 2009. ISBN 978-83-60466-43-8.
27. Landowski J. Neurobiologia reakcji stresowej. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia.* 2007; 2(1): 26-36.
28. Kostowski W. Współczesne kierunki badań nad patomechanizmem stresu i depresji i ich znaczenie w kształtowaniu poglądów na działanie leków przeciwdepresyjnych. *Psychiatria.* 2004; 2: 63-71.
29. Zimecki M, Artym J. Wpływ stresu psychicznego na odpowiedź immunologiczną. *Post Hig Med Dosw.* 2004; 58: 166-175.

30. Whitworth J A., Williamson P M, Mangos G, et al. Cardiovascular consequences of cortisol excess. *Vasc Health Risk Manag.* 2005; 1(4): 291-299.
31. Flaherty R L, Owen M, Fagan-Murphy A, et al. Glucocorticoids induce production of reactive oxygen species/reactive nitrogen species and DNA damage through an iNOS mediated pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2017; 19: 35, doi: 10.1186/s13058-017-0823-8
32. Mossink J C, Verkuil B, Burger A M, et al. Ambulatory assessed implicit affect is associated with salivary cortisol. *Front Physiol.* 2015; 6: 111, doi: 10.3389/fpsyg.2015.00111
33. Vogeser M, Kratzsch J, Bae Y, et al. Multicenter performance evaluation of a second generation cortisol assay. *Clin Chem Lab Med.* 2017; 55(6): 826-835.
34. Kyriacou A, Stepien K, Issa B. Urinary steroid metabolites in a case of florid Ectopic Cushing's syndrome and clinical correlations. *Hormones.* 2016; 15(4): 540-547.
35. Gagnon N, Fréchtten I, Mallet P-L, et al.: Establishment of reference intervals for the salivary cortisol circadian cycle, by electrochemiluminescence (ECLIA), in healthy adults. *Clin Biochem.* 2018, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.02.012>
36. Dziurkowska E, Zarzycki P K. Rola oznaczania hormonów steroidowych w ślinie w nowoczesnej diagnostyce medycznej. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna.* 2007; 4: 401-409.

Autor do korespondencji:

dr n. med. Iga Hołyńska-Iwan
Katedra Patobiochemii i Chemii Klinicznej
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
85-064 Bydgoszcz, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9
tel. +48 52 5853598
email: igaholynska@cm.umk.pl

Otrzymano: 15.12.2017

Akceptacja do druku: 27.03.2018

Nie zgłoszono sprzeczności interesów

