



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΤΟΜΕΑΣ ΜΗΤΕΡΑΣ-ΠΑΙΔΙΟΥ  
Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ-  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΚΑΝΑΚΑ-  
GANTENBEIN

## **ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

---

**ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΗ  
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΦΟΡΕΩΝ ΤΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ  
ΤΗΣ 21-ΥΔΡΟΞΥΛΑΣΗΣ.**

**‘Διερεύνηση ύπαρξης σωματικής και ψυχολογικής  
ευαισθησίας στο στρες’**

Κολτσίδα Γεωργία

Παιδίατρος – Πνευμονολόγος



Στους γονείς μου, Γεώργιο και Σωτηρία ,  
για την απύθμενη αγάπη, πίστη και στήριξή τους.

## Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ ζυγγραφὴν τήνδε· ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηϊζόντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηϊζῶσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ζυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὀρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ζυμβουλίην τοιήνδε· ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἄγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπήϊης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ζυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον· παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι, τάναντία τουτέων.

## **ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

Γεράσιμος Δ. Σιάσος , Καθηγητής Καρδιολογίας

## **ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Εμμανουήλ Ζουμάκης ( επιβλέπων μέλος), Επίκουρος Καθηγητής Μοριακής Βιοχημείας

Γεώργιος Χρούσος, Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής και Ενδοκρινολογίας

Θεοκλής Ζαούτης , Καθηγητής Παιδιατρικής και Λοιμωξιολογίας

## **ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Εμμανουήλ Ζουμάκης ( επιβλέπων μέλος), Επίκουρος Καθηγητής Μοριακής Βιοχημείας

Γεώργιος Χρούσος, Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής και Ενδοκρινολογίας

Θεοκλής Ζαούτης , Καθηγητής Παιδιατρικής και Λοιμωξιολογίας

Αθανάσιος Καδίτης, Καθηγητής Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Παιδοπνευμονολογίας

Αντώνιος Καττάμης, Καθηγητής Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

Maria Roser Pons, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Νευρολογίας

Λάμπρος Φώτης, Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Ρευματολογίας

## Πρόλογος

Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε ένα σημαντικό ‘ταξίδι’ με πολλαπλά διδάγματα κατά την διαδρομή του. Αρχικά, συνέβαλε στην απόκτηση επιστημονικής γνώσης , στην κατανόηση βασικών αρχών της έρευνας και της στατιστικής και στην καλλιέργεια της κριτικής αξιολόγησης της βιβλιογραφίας. Εξίσου σημαντική, ωστόσο ήταν και η ανάδειξη αξιών όπως η επιμονή και η αποφασιστικότητα, η συγκέντρωση και ο προγραμματισμός , η πίστη και η εμπιστοσύνη. Η Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας , κ. Ευαγγελία Χαρμανδάρη αποτέλεσε τον σπουδαιότερο αρωγό στην διεξαγωγή της έρευνας με την συνεχή επίβλεψη και καθοδήγηση της ενώ θα πρέπει να σημειωθεί πως η σύλληψη και ο σχεδιασμός της μελέτης , της ανήκουν αποκλειστικά. Ο Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής και Ενδοκρινολογίας, Γεώργιος Χρούσος , από τους σημαντικότερους και πιο αναγνωρίσιμους επιστήμονες στον κόσμο, στήριξε επαναλαμβανόμενα την εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής , και είναι με δέος και ταπεινότητα που του προσφέρω τις ευχαριστίες μου. Ο Επίκουρος Καθηγητής Μοριακής Βιοχημείας , κ Εμμανουήλ Ζουμάκης , είχε την τελική επίβλεψη της διδακτορικής διατριβής και συνέβαλλε καθοριστικά στην ολοκλήρωσή της, με την ευγενική καθοδήγησή του , που εκτιμώ βαθύτατα. Ο Καθηγητής Παιδιατρικής και Παιδιατρικής -Λοιμωξιολογίας , κ. Θεοκλής Ζαούτης, παγκοσμίως αναγνωρισμένος επιστήμονας, έχει την απέραντη ευγνωμοσύνη μου , για την στήριξη όχι μόνο της διδακτορικής μου διατριβής αλλά ολόκληρης της ιατρικής μου εκπαίδευσης στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Επίσης, θα ήθελα να απευθύνω τις θερμές ευχαριστίες μου στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Νευρολογίας, κ. Maria- Roser Pons στον Καθηγητή Παιδιατρικής και Παιδιατρικής- Πνευμονολογίας κ. Αθανάσιο Καδίτη, που διδάσκουν και κυρίως εμπνέουν με το ήθος, τον επαγγελματισμό και την κατάρτισή τους , και ενθάρρυναν την ολοκλήρωση της διατριβής. Τέλος , ευχαριστώ, τον Καθηγητή Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας , κ. Αντώνιο Καττάμη καθώς και τον κ. Λάμπρο Φώτης, Επίκουρο Καθηγητή Παιδιατρικής και Παιδιατρικής Ρευματολογίας για την τιμή που μου έκαναν να συμμετέχουν στην επταμελή εξεταστική επιτροπή.

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**ΓΕΩΡΓΙΑ ΚΟΛΤΣΙΔΑ**  
**ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ-ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΟΣ**

### Στοιχεία Επικοινωνίας

Διεύθυνση: Στρατάρχου Αλεξάνδρου Παπάγου 29<sup>Α</sup> Μαρούσι 15126, Αθήνα

Email: [gkoltsida@hotmail.com](mailto:gkoltsida@hotmail.com)

Κινητό Τηλέφωνο: 6981220510

<https://drkoltsida.gr>

### Ακαδημαϊκή Εκπαίδευση

2000-2006: Πτυχίο ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

2015- 2022: Master of Science στην Κλινική Επιδημιολογία και Βιοστατιστική. Πανεπιστήμιο της Πενσυλβανίας, ΗΠΑ.

2020- παρόν: Μεταπτυχιακό ‘ Διαταραχές της αναπνοής στον ύπνο-Εργαστηριακή και Κλινική Ιατρική του ύπνου’, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

## Μετεκπαίδευση

2008: Ειδικότητα της Παιδιατρικής για 3 μήνες (8/1/2008- 7/4/2008) στο Γενικό Νοσοκομείο Ζακύνθου

2011-2014: Ειδικότητα Παιδιατρικής στο Maimonides Medical Center, Μπούκλιν, Νέα Υόρκη, ΗΠΑ.

2014-2017: Υποειδικότητα (Fellowship) στην Παιδιατρική-Πνευμονολογία, στο Children's Hospital of Philadelphia, Πενσυλβάνια , ΗΠΑ

## Επαγγελματική εμπειρία

2020- παρόν: Ακαδημαϊκή Υπότροφος Α΄ Πανεπιστημιακή Κλινική , Νοσοκομείο Παίδων ‘ Η Αγία Σοφία’

2018- παρόν: Επιστημονικός συνεργάτης, Παιδίατρος- Πνευμονολόγος στο ΙΑΣΩ Παίδων

2018- παρόν: Ιδιωτικό Παιδοπνευμονολογικό ιατρείο, Λ.Κιφησίας 56 και Δελφών, Μαρούσι

2018-2019: Επιστημονικός συνεργάτης, Παιδίατρος-Πνευμονολόγος, Παιδιατρικό Κέντρο Αθηνών

2006-2008: Υπηρεσία υπαίθρου στο Κέντρο Υγείας Κατασταρίου και Ιατρείο του Πλάνου, στο Νομό Ζακύνθου.



### Πιστοποιήσεις

2015: Τίτλος Ειδικευμένης Παιδιατρικής Ειδικότητας, American Academy of Paediatric ( μετά από επιτυχή συμμετοχή στις Εξετάσεις Παιδιατρικής, American Board of Pediatrics, ΗΠΑ)

2018: Τίτλος Ειδικευμένης Παιδιατρικής Ειδικότητας στην Ελλάδα

2018: Τίτλος Εξειδίκευσης στην Παιδιατρική Πνευμονολογία του American Academy of Paediatric (μετά από επιτυχή συμμετοχή στις Εξετάσεις Παιδιατρικής- Πνευμονολογίας, American Board of Pediatrics, ΗΠΑ)

### Ερευνητική δραστηριότητα

2015-2017: The effect of treatment of Aspergillus isolated from the respiratory tract of patients with cystic fibrosis, on their pulmonary function, Children's Hospital of Philadelphia, University of Pennsylvania.

2009-2011: Διδακτορική Φοιτήτρια στο Τμήμα Παιδιατρικής- Ενδοκρινολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών. Research project: Endocrinologic and Psychologic Evaluation of 21-Hydroxylase Deficiency Carriers and Matched Normal Subjects.

### Υποτροφίες- Βραβεία

2006: Υποτροφία για κλινική άσκηση στην Νευρολογία και Παιδιατρική Νευρολογία στο Boston Medical Centre, Βοστώνη, ΗΠΑ

2015: Children's Hospital of Philadelphia, Department of Paediatrics: University of Pennsylvania's Master's degree tuition grant, ΗΠΑ

2016: Cystic Fibrosis Foundation: Βραβείο για συμμετοχή στο 7<sup>th</sup> Advances Against Aspergillosis Conference, Μάρτιος 2016, Manchester, UK

2016: American Thoracic Society: Βραβείο για συμμετοχή στο Fellows Tract Symposium and ATS Conference Μάιος 2016, San Francisco, ΗΠΑ

2016: CHEST βραβείο για συμμετοχή στο CHEST ετήσιο meeting Οκτώβριος 2016, Los Angeles, ΗΠΑ

2016: Caruso Fellowship Βραβείο για την έρευνα στην κυστική ίνωση.

### Παρουσιάσεις σε συνέδρια

2022 Μελέτη ύπνου πριν την αδενοειδεκτομή-αμυγδαλεκτομή, 12<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Πνευμονολογίας

2022 Παρατεταμένη Βακτηριακή Βρογχίτιδα Μύθος ή Πραγματικότητα, 6<sup>ο</sup> Παιδιατρικό Σεμινάριο Παιδιατρικής

2022 Προσχολικός συριγμός: Κατευθυντήριες οδηγίες διάγνωσης και αντιμετώπισης, 14<sup>ο</sup> Συνέδριο Παιδιατρικής , Κατευθυντήριες οδηγίες στην Παιδιατρική

2022 Αναπνευστικά προβλήματα σε παιδιά με νευρομυϊκές παθήσεις, 54<sup>η</sup> Θεραπευτική Ενημέρωση , Α' Παιδιατρική Πανεπιστημιακή Κλινική, Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

2021 ‘ Υπνική άπνοια: από την υποψία στην διάγνωση’ 11<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδοπνευμονολογικό συνέδριο , Ιωάννινα.

2020 ‘ Σύγχρονη αντιμετώπιση του άσθματος’ 53<sup>η</sup> Θεραπευτική Ενημέρωση , Α' Παιδιατρική Πανεπιστημιακή Κλινική, Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

2019 : ‘ Διαταραχές της αναπνοής στα παιδιά κατά τον ύπνο’, 12<sup>ο</sup> Ετήσιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Όμιλος Ιατρικού Κέντρου Αθηνών, Αθήνα

2019 : ‘ Θεραπεία με εισπνεόμενα φάρμακα, πότε και πως’ , 8<sup>η</sup> Επιστημονική Ημερίδα , Όμιλος ΙΑΣΩ, Αθήνα

2018: ‘ Διερεύνηση του Χρόνιου Παραγωγικού Βήχα’, 11<sup>ο</sup> Ετήσιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Όμιλος Ιατρικού Κέντρου Αθηνών, Αθήνα

2018: ‘Αναπνευστικά προβλήματα σε παιδιά με νευρομυϊκές παθήσεις’ , Πανελλήνιο Παιδονευρολογικό Συνέδριο, Αθήνα

2018 : ‘ Επίδραση των διαταραχών ύπνου στην υγεία και ζωή των εφήβων’ , Πανελλήνιο Διεπιστημονικό Συνέδριο, Ναύπλιο

2018: ‘ Τεχνικές χορήγησης εισπνεόμενων φαρμάκων’ , 9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδοπνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα

2017: Pulmonary Alveolar Proteinosis: A Rarely Suspected Etiology of Respiratory Distress in an Adolescent Patient with Hematologic Malignancy, poster presentation, American Thoracic Society Conference, Washington DC, ΗΠΑ

2017: Poster presentation: Novel Approach to Inflammatory Myofibroblastic Bronchial Tumour: A case report, American Thoracic Society Conference, Washington DC, ΗΠΑ

2016: ‘ Ρινοκολπίτιδες και συμπαρομαρτούσα παθολογία’ Πολυθεματικό Συνέδριο Ιατρικής, Ζάκυνθος.

#### Βιβλιογραφία- Δημοσιεύσεις

##### Δημοσιεύσεις:

1.Nocturnal oximetry parameters as predictors of sleep apnea severity in resource-limited settings. Polytarchou A, Ohler A, Moudaki A, **Koltsida G**, Kanaka-Gantenbein C, Kheirandish-Gozal L, Gozal D, Kaditis AG. J Sleep Res. 2022 May 27. doi: 10.1111/jsr.13638.

2.A toddler diagnosed with severe post infectious bronchiolitis obliterans and COVID-19 infection Patra Koletsi, Marita Antoniadi, Despina Mermiri, Georgia Koltsida, Dimitra Koukou, Maria Noni, Vasiliki Spoulou, Athanasios Michos

Pediatr Pulmonol. 2021 Jul; 56(7): 2381–2384. Published online 2021 May 4. doi: 10.1002/ppul.25436

3.Fungal Lung Disease **Koltsida G**, Zaoutis T. Paediatric Respiratory Reviews doi: 10.1016/j.prrv.2020.04.009.

4. Long Term Outcomes in Chronic Lung Disease Requiring Tracheostomy and Chronic ventilation. **Koltsida G.**, Konstantinopoulou S., (2019) “Seminars in Fetal Neonatal Med. 2019 Oct;24(5):101044. doi: 10.1016/j.siny.2019.101044.

5. Psychological vulnerability to stress in carriers of congenital adrenal hyperplasia due to 21 hydroxylase deficiency. Hormones (Athens) Kyritsi EM, **Koltsida G**, Farakla I, Papanikolaou A, Critselis E, Mantzou E, Zoumakis E, Kolaitis G, Chrousos GP, Charmandari E ‘. 2017 Jan;16(1):42-53. doi: 10.14310/horm.2002.1718

### Βιβλία

2020: ‘ Σύγχρονη αντιμετώπιση του άσθματος’ Δελτίο Α’ Παιδιατρική Πανεπιστημιακή Κλινική, Τόμος 70, τεύχος 2

2017: Recurrent Pneumonia, Pediatric Infectious Diseases: Essentials for Practice

2016: Pectus excavatum and carinatum: Pediatric Pulmonology, Asthma, and Sleep Medicine: A Manual for Primary Care, a publication of the American Academy of Pediatrics.

2016: Pneumothorax: Pediatric Pulmonology, Asthma, and Sleep Medicine: A Manual for Primary Care, a publication of the American Academy of Pediatrics.

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	15
Abstract .....	16
Συντομογραφίες .....	17
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	19
1. Εισαγωγή .....	19
1.2 Σύνθεση Γλυκοκορτικοειδών.....	21
1.3 Σύνθεση Ανδρογόνων .....	21
1.4 Σύνθεση Αλατοκορτικοειδών .....	22
2. Ρύθμιση της έκκρισης των επινεφριδιακών ορμονών .....	22
2.1 Γλυκοκορτικοειδή.....	22
2.2 Ανδρογόνα .....	23
2.3 Αλατοκορτικοειδή.....	23
3. Γενετική βάση της ΣΥΕ .....	25
4. Παθογενετικοί μηχανισμοί της ΣΥΕ.....	28
5. Κλινική συμπτωματολογία .....	30
5.1 Βρεφική ηλικία .....	30
5.2 Παιδική ηλικία.....	31
5.3 Εφηβεία και ενήλικη ζωή.....	31
5.4 Επιπρόσθετες εκδηλώσεις.....	32
6. Διάγνωση .....	34
6.1 Κλινική διάγνωση .....	34
6.2 Εργαστηριακή διάγνωση.....	34
6.3 Προληπτικός έλεγχος νεογνών .....	35
6.4 Γενετικός έλεγχος .....	36
7. Θεραπεία .....	37
8. Φορείς της ανεπάρκειας του ενζύμου της 21-υδροξυλάσης.....	38
9. Εκλυτική ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH).....	39
9.1 Η φυσιολογία της CRH.....	39
9.2 CRH και στρες .....	41
9.3 CRH και κατάθλιψη.....	45
9.4 CRH και εθισμός.....	47
9.5 CRH και ανοσοποιητικό σύστημα .....	48

9.6 CRH και καρδιαγγειακό σύστημα .....	49
9.7 CRH και γαστρεντερικό σύστημα.....	52
9.8 CRH και αναπαραγωγικό σύστημα.....	53
9.9 CRH και δερματολογικές εκδηλώσεις.....	56
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	58
10. Σχεδιασμός μελέτης .....	58
11. Πηγή ομάδας περίπτωσης.....	59
12. Πηγή ομάδας ελέγχου .....	60
13. Επιλογή ομάδας περίπτωσης.....	60
14. Επιλογή ομάδας ελέγχου.....	61
15. Συλλογή πληθυσμού μελέτης.....	61
16. Ερωτηματολόγια .....	62
17. Ανθρωπομετρικά δεδομένα .....	67
18. CRH τεστ .....	69
19. 24ώρη συλλογή ούρων.....	75
20. Συλλογή σιέλου.....	79
21. Επεξεργασία δειγμάτων .....	86
21.1 Δείγματα αίματος.....	86
21.2 Δείγματα σιέλου.....	86
21.3 Δείγματα ούρων .....	87
22. Χημική ανάλυση δειγμάτων .....	87
23. Αποτελέσματα.....	89
23.1 Στατιστική ανάλυση.....	89
23.2. Ανάλυση αποτελεσμάτων .....	96
24. Συμπέρασμα .....	115
Βιβλιογραφία .....	127

## Περίληψη

Οι φορείς της Συγγενούς Υπερπλασίας των Επινεφριδίων (ΣΥΕ) λόγω ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης (21-OHD) εμφανίζουν αυξημένη έκκριση πρόδρομων ουσιών της κορτιζόλης μετά από δοκιμασία διέγερσης με CRH, γεγονός που υποδηλώνει αναστολή της παραγωγής της κορτιζόνης και αντιρροπιστική αύξηση της έκκρισης της CRH. Η κορτιζόλη και η CRH έχουν σημαντικές επιδράσεις στην συμπεριφορά ενώ η υπερέκκριση της CRH σχετίζεται με καταστάσεις χρόνιου στρες και κατάθλιψη. Ο στόχος της μελέτης μας ήταν η αξιολόγηση του ενδοκρινολογικού και ψυχολογικού προφίλ των φορέων της 21-υδροξυλάσης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Στην μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν, 29 γονείς παιδιών με κλασσική μορφή ΣΥΕ (14 άντρες και 15 γυναίκες-μέση ηλικία  $41.76 \pm 1.07$  χρόνια) και συνεπώς φορείς της 21-υδροξυλάσης αλλά και 13 γονείς παιδιών με χρόνια ενδοκρινολογικό πρόβλημα αλλά υγιείς (5 άντρες και 8 γυναίκες, μέση ηλικία  $43.77 \pm 1.69$  χρόνια). Όλοι οι συμμετέχοντες στην μελέτη υποβλήθηκαν σε δοκιμασία διέγερσης με CRH και κατόπιν μέτρηση των ACTH, κορτιζόλη, 17-υδροξυπρογεστερόνη (17-OHP) και ανδροστενεδιόνης καθώς και σε μέτρηση 24ώρης έκκρισης της κορτιζόλης στα ούρα. Η αξιολόγηση των ψυχομετρικών παραμέτρων πραγματοποιήθηκε με τα εξής ερωτηματολόγια the State-Anxiety Inventory (STAI), Beck Depression Inventory, Symptom Checklist-90R και Temperament and Character Inventory.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν πως οι φορείς της 21-OHD εμφάνιζαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις 17-OHP μετά από διέγερση με CRH και υψηλότερα σκορ στο STAI1 ( $47.6 \pm 1.1$  ε  $43.3 \pm 1.5$ ,  $P=0.023$ ) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Οι μέσες τιμές 24ώρης έκκρισης κορτιζόλης στα ούρα είχαν θετική συσχέτιση με τον παρανοϊκό ιδεασμό paranoid ideation ( $r=0.435$ ;  $P=0.023$ ) και την ψύχωση ( $r=0.454$ ;  $P=0.017$ ). Με την μέθοδο της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης, διαπιστώθηκε πως ανεξάρτητη μεταβλητή πρόβλεψης του STAI1 ήταν τα μέγιστα επίπεδα της 17-OHP ( $\beta$ : 0.055, SE: 0.023,  $R^2$ : 0.290,  $P=0.031$ ).

Συνεπώς διαπιστώνουμε πως οι φορείς της 21-υδροξυλάσης έχουν προδιάθεση στην ανάπτυξη αγχώδους διαταραχής.



## Abstract

**Background:** Carriers of congenital adrenal hyperplasia (CAH) due to 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) demonstrate increased secretion of cortisol precursors following ACTH stimulation, suggestive of impaired cortisol production and compensatory increases in hypothalamic CRH secretion. Both cortisol and CRH have behavioral effects, and hypothalamic CRH hypersecretion has been associated with chronic states of anxiety and depression.

**Objective:** To perform endocrinologic and psychologic evaluation in carriers of 21-OHD and matched control subjects.

**Patients and Methods:** Twenty-nine parents of children with classic CAH (14 males, 15 females; age (mean  $\pm$  SEM):  $41.76 \pm 1.07$  yr), and hence obligate 21-OHD carriers, and 13 normal subjects (5 males, 8 females; age:  $43.77 \pm 1.69$  yr) were recruited to participate in the study. All subjects underwent a formal ovine (o) CRH stimulation test with measurement of ACTH, cortisol, 17-hydroxyprogesterone (17-OHP), and androstenedione concentrations, which was preceded by determination of urinary free cortisol excretion. Psychometric assessment was performed by administering the State-Anxiety Inventory (STAI), Beck Depression Inventory, Symptom Checklist-90R, and Temperament and Character Inventory.

**Results:** Carriers of 21-OHD had significantly higher 17-OHP concentrations following oCRH stimulation and higher STAI1 ( $47.6 \pm 1.1$  vs  $43.3 \pm 1.5$ ,  $P=0.023$ ) scores compared with control subjects. Mean 24-hour UFC concentrations were positively correlated with paranoid ideation ( $r=0.435$ ;  $P=0.023$ ) and psychotism ( $r=0.454$ ;  $P=0.017$ ). Stepwise multiple linear regression analysis revealed that the single independent predictor of state anxiety STAI1 was peak stimulated 17-OHP concentrations ( $\beta$ : 0.055, SE: 0.023,  $R^2$ : 0.290,  $P=0.031$ ).

**Conclusions:** Carrier state of 21-OHD may predispose subjects the development of anxiety disorders.

## Συντομογραφίες

ACE.	Angiotensin
ACTH.	Adrenocorticotrophic hormone
AUC.	Area Under the Curve
BECK.	Beck Depression Inventory
CAH.	Congenital adrenal hyperplasia
CRH.	Corticotropin-releasing hormone
DHEA.	Dehydroepiandrosterone
DOC.	11-Deoxycorticosterone
c-AMP.	Cyclic adenosine 3',5'- monophosphate
FSH.	Follicle- Stimulating-Hormone
GnRH.	Gonadotropin-Releasing Hormone
HDL.	High density lipoprotein
HPA.	Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis
IL.	Interleukin
GABA.	$\gamma$ – aminobutyric acid
LC.	Locus ceruleus
LDL.	Low density Lipoprotein
LH.	Luteinizing Hormone
NE.	Norepinephrine
POMC.	Proopiomelanocortin
POMS.	Profile of Mood State
PSQ.	Perceived Stress Questionnaire
PVN.	Paraventricular Nucleus
ROC.	Receiver Operator Curve
SE.	Standard Error
SCL90-R	Symptom Checklist -90R
STAI.	State Anxiety Inventory
StAR.	Steroidogenic acute regulatory protein
TCI.	Temperament and Character Inventor

TNF. Tumor necrosis factor

21-OHD. 21 hydroxylase

17-OHP. 21 hydroxyprogesterone

ΣΥΕ. Συγγενή Υπερπλασία Επινεφριδίων

ΥΥΕ. Υποθάλαμος Υπόφυση Επινεφρίδια ( άξονας)

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1.Εισαγωγή

Η Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων (ΣΥΕ) λόγω ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης αποτελεί μια αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσο που οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο CYP21A2. Οι μεταλλάξεις αυτές οδηγούν σε πλήρη ή μερική απώλεια της 21-υδροξυλάσης που έχει ως αποτέλεσμα την διαταραχή της στεροειδογένεσης στον φλοιό των επινεφριδίων και αντίστοιχα της παραγωγής των γλυκοκορτικοειδών και αδρενοκορτικοειδών ορμονών. Η ΣΥΕ εμφανίζεται με ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων που περιλαμβάνει την αρρενοποίηση των εξωτερικών γεννητικών οργάνων των θήλεων, την πρόωπη αδρεναρχή, την υπογονιμότητα, και τις ηλεκτρολυτικές διαταραχές<sup>1,2</sup>.

Η ΣΥΕ διακρίνεται σε κλασική μορφή (απλή αρρενοποιητική και με απώλεια άλατος) που σχετίζεται με μεγαλύτερη θνητότητα και την πιο ήπια μη κλασική ή όψιμης έναρξης μορφή. Η συχνότητα της κλασικής μορφής ανέρχεται σε 1 στις 9000 με 12000 γεννήσεις ενώ η συχνότητα της μη κλασικής μορφής υπολογίζεται σε 1 στις 15000 με 20000 γεννήσεις. Βέβαια, η συχνότητα της μη κλασικής μορφής καθίσταται πιο δύσκολο να καθοριστεί λόγω ήπιων διαταραχών που δεν διαγιγνώσκονται άμεσα. Η ΣΥΕ εμφανίζεται πιο συχνά στον Καυκάσιο πληθυσμό ενώ χαρακτηριστικά ο Spreicer και οι συνεργάτες του έδειξαν πως η μη κλασική μορφή της ανεπάρκειας της 21 υδροξυλάσης έχει αυξημένη συχνότητα στους Ασκενάζι Εβραίους, στους Ισπανόφωνες και τους Σέρβους<sup>3,4</sup>.

Τα επινεφρίδια είναι δύο ενδοκρινείς αδένες που βρίσκονται στο οπισθοπεριτοναϊκό χώρο, στον άνω πόλο του σύστοιχου νεφρού και αποτελούνται από την φλοιώδη μοίρα, εξωτερικά, και μυελώδη μοίρα, εσωτερικά. Η φλοιώδης μοίρα αποτελείται με την σειρά της από την σπειροειδής ζώνη που παράγει τα αλατικοκορτικοειδή, την στυλιδωτή ζώνη που παράγει κορτιζόλη και κυρίως ανδρογόνα και την δικτυωτή ζώνη που είναι υπεύθυνη για την βασική έκκριση κορτιζόλης. Η μυελώδη μοίρα καταλαμβάνει το κέντρο των επινεφριδίων και εκκρίνει επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη.

Η στεροειδογένεση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία η οποία εξαρτάται από ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων του κυτοχρώματος P450 των οποίων η παρουσία και η λειτουργία στις διάφορες ζώνες του φλοιού των επινεφριδίων καθορίζουν την παραγωγή των επινεφριδιακών ορμονών. Τα ένζυμα αυτά χωρίζονται, ανάλογα με τη θέση τους στο εσωτερικό των επινεφριδιακών κυττάρων, σε μιτοχονδριακά, όπως το ένζυμο αφαίρεσης της πλευρικής αλυσίδας P450 (P450sc), η 11β-υδροξυλάση (P450c11) και η συνθετάση της αλδοστερόνης (P450aldo), και σε μικροσωμιακά, όπως η 17α-υδροξυλάση (P450c17) και η 21-υδροξυλάση (P450c21) που εδράζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Η βασική χημική ουσία για την παραγωγή των επινεφριδιακών ορμονών είναι η χοληστερόλη, η οποία με τη μορφή λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) καταλήγει στα επινεφρίδια μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Σύνθεση της LDL πραγματοποιείται και από τα ίδια τα επινεφρίδια, ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι και οι λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη στεροειδογένεση. Η LDL εισέρχεται στο εσωτερικό των κυττάρων του επινεφριδιακού φλοιού μέσω ενδοκυττάρωσης και στη συνέχεια, μέσω υδρόλυσης εκκρίνεται ελεύθερη χοληστερόλη.

Το επόμενο βήμα της στεροειδογένεσης είναι η μεταφορά της ενδοκυττάριας χοληστερόλης στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων και η μετατροπή της σε πρεγνενολόνη μέσω της δράσης του ενζύμου P450sc. Σημαντικό ρόλο στη μεταφορά της χοληστερόλης από την εξωτερική στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων επιτελεί η ενεργοποίηση μίας ειδικής πρωτεΐνης, της οξείας ρυθμιστικής πρωτεΐνης της στεροειδογένεσης (StAR).

## 1.2 Σύνθεση Γλυκοκορτικοειδών

Η προγενηολόνη μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα, όπου μέσω της δράσης του ενζύμου 3β-HSD2 μετατρέπεται σε προγεστερόνη, ενώ μέσω της δράσης του ενζύμου P450c17 υπόκειται σε 17α-υδροξυλίωση και μετατρέπεται σε 17-υδροξυπρογενηολόνη. Στη συνέχεια, παράγεται η 17-υδροξυπρογεστερόνη (17-OHP) μέσω υδροξυλίωσης της προγεστερόνης από το P450c17, και μέσω της δράσης της 3βHSD2 στην 17-υδροξυπρογενηολόνη. Η διαδικασία της 17α-υδροξυλίωσης είναι απαραίτητη για τη σύνθεση των γλυκοκορτικοειδών και δεν πραγματοποιείται στη σπειροειδή ζώνη των επινεφριδίων καθώς η τελευταία δεν εκφράζει το P450c17.

Επόμενο στάδιο της παραγωγής των γλυκοκορτικοειδών αποτελεί η 21-υδροξυλίωση της προγεστερόνης στη δικτυωτή ζώνη και της 17-OHP στη στηλιδωτή ζώνη του φλοιού των επινεφριδίων, σε 11-δεοξυκορτικοστερόνη (DOC) και 11-δεοξυκορτιζόλη αντίστοιχα, μέσω της δράσης του ενζύμου P450c21. Στη συνέχεια, στα μιτοχόνδρια, οι δύο αυτές ορμόνες υπόκεινται σε 11β-υδροξυλίωση από το ένζυμο P450c11 και μετατρέπονται σε κορτικοστερόνη και κορτιζόλη αντίστοιχα. Η DOC μετατρέπεται σε κορτικοστερόνη και μέσω της δράσης του P450aldo.

## 1.3 Σύνθεση Ανδρογόνων

Το P450c17 εμφανίζει επιπλέον δράση 17,20-λυάσης, εκτός από 17α-υδροξυλίωση, μέσω της οποίας πραγματοποιείται η παραγωγή των επινεφριδιακών ανδρογόνων, της ανδροστενεδιόνης και της DHEA, από την 17-OHP και την 17-υδροξυπρογενηολόνη αντίστοιχα. Η 17-OHP δεν αποτελεί το κατάλληλο υπόστρωμα για τη δράση του P450c17, οπότε είναι πολύ μικρή η μετατροπή της πρώτης σε ανδροστενεδιόνη, η οποία κυρίως παράγεται από τη DHEA μέσω της δράσης του ενζύμου 3β-HSD2. Η DHEA, στη συνέχεια, μετατρέπεται σε DHEAs μέσω της επίδρασης μια θειοκινάσης. Εκτός από τα παραπάνω ανδρογόνα (ανδροστενεδιόνη, DHEA και DHEAs), τα επινεφρίδια έχουν τη δυνατότητα να παράγουν και μια πολύ μικρή ποσότητα τεστοστερόνης.

## **1.4 Σύνθεση Αλατοκορτικοειδών**

Το κύριο αλατοκορτικοειδές που εκκρίνεται από τα επινεφρίδια είναι η αλδοστερόνη. Αλατοκορτικοειδή δράση παρουσιάζουν, επίσης, η κορτικοστερόνη και η DOC οι οποίες εκκρίνονται στη στηλιδωτή και στη δικτυωτή ζώνη των επινεφριδίων.

Η σύνθεση της αλδοστερόνης και των ενδιάμεσων μεταβολιτών της πραγματοποιείται μόνο στη σπειροειδή ζώνη των επινεφριδίων λόγω του γεγονότος ότι το απαραίτητο ένζυμο για τη μετατροπή της κορτικοστερόνης σε αλδοστερόνη, το P450 aldo, βρίσκεται μόνο σε αυτή τη ζώνη. Συγκεκριμένα, με τη δράση αυτού του ενζύμου, η κορτικοστερόνη μετατρέπεται 18-υδροξυκορτικοστερόνη, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε αλδοστερόνη.

## **2. Ρύθμιση της έκκρισης των επινεφριδιακών ορμονών**

### **2.1 Γλυκοκορτικοειδή**

Η έκκριση των γλυκοκορτικοειδών και των επινεφριδιακών ανδρογόνων υπόκειται στον έλεγχο του υποθαλαμικού-υποφυσιακού-επινεφριδιακού άξονα (HPA) και συγκεκριμένα της ACTH. Η αδρενικοτρόπος ορμόνη (ACTH) εκκρίνεται από την υπόφυση και ακολουθεί τις ημερήσιες διακυμάνσεις της έκκρισης κορτικοεκλυτίνης (CRH) από τον υποθάλαμο. Η ACTH ασκεί τόσο άμεση όσο και χρόνια δράση στο φλοιό των επινεφριδίων διεγείροντας την ανάπτυξή του και τη στεροειδογένεση. Λόγω αυτής της δράσης η χρόνια διέγερση των επινεφριδίων από την ACTH οδηγεί σε φλοιοεπινεφριδιακή υπερπλασία και υπερτροφία, ενώ η έλλειψη της ACTH οδηγεί σε φλοιοεπινεφριδιακή ατροφία.

Άλλοι μηχανισμοί οι οποίοι επηρεάζουν την έκκριση των γλυκοκορτικοειδών εκτός από τον ενδογενή κirkάδιο ρυθμό της ACTH είναι η απάντηση του HPA άξονα σε καταστάσεις stress και το σύστημα αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης της ACTH από τα γλυκοκορτικοειδή.

## 2.2 Ανδρογόνα

Η έκκριση των επινεφριδιακών ανδρογόνων υπόκειται και αυτή στον έλεγχο του HPA άξονα. Συγκεκριμένα, η DHEA και η ανδροστενεδιόνη ακολουθούν ένα κινκάρδιο ρυθμό έκκρισης παρόμοιο με αυτόν της κορτιζόλης. Η DHEAs, από την άλλη πλευρά, δεν ακολουθεί αυτό το ρυθμό λόγω του μεγάλου χρόνου ημίσειας ζωής στην κυκλοφορία του αίματος.

## 2.3 Αλατοκορτικοειδή

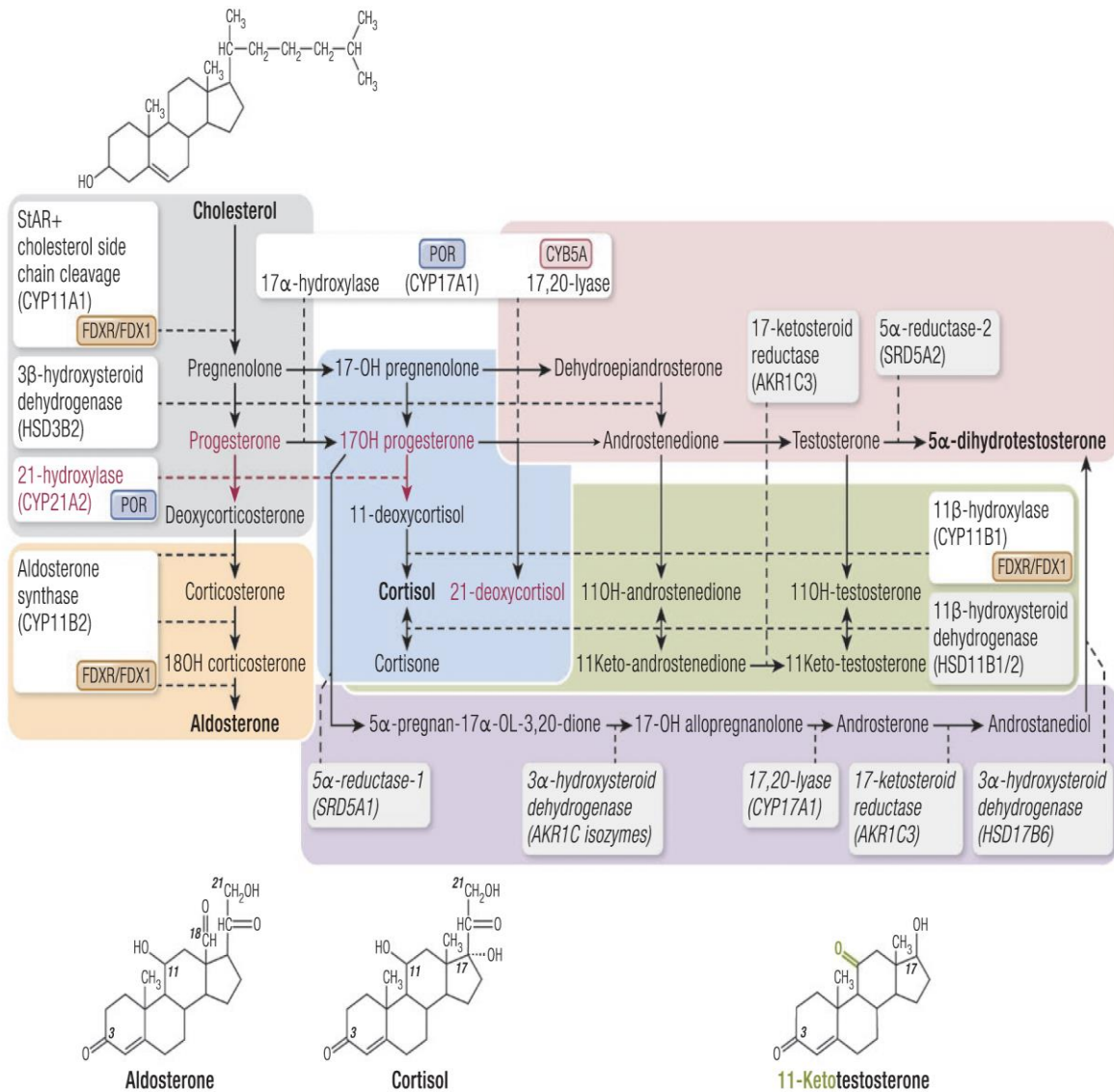
Η έκκριση της αλδοστερόνης ρυθμίζεται από τρεις κύριους παράγοντες: την αγγειοτενσίνη II, τα επίπεδα καλίου και σε μικρότερο βαθμό από την ACTH.

Το κάλιο και η αγγειοτενσίνη II διεγείρουν την έκκριση της αλδοστερόνης αυξάνοντας τη μεταγραφή του P450 aldo. Αντίθετα, η επίδραση της ACTH είναι πολύ μικρή και διαφέρει ανάλογα με τη διάρκεια διέγερσης των επινεφριδίων. Η οξεία διέγερση της σπειροειδούς ζώνης των επινεφριδίων από την ACTH οδηγεί σε πολύ μικρή αύξηση της έκκρισης αλδοστερόνης, ενώ η χρόνια διέγερση δεν έχει καμία δράση στην παραγωγή αλδοστερόνης, αντίθετα μπορεί να προκαλέσει καταστολή της έκκρισής της.

Η παραγωγή της αγγειοτενσίνης II, και επακόλουθα της αλδοστερόνης, καθορίζεται από το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Η ρενίνη είναι ένα ένζυμο που εκκρίνεται από την παρασπειραματική συσκευή των νεφρών ως απάντηση χαμηλής νεφρικής αρτηριακής πίεσης αιμάτωσης, χαμηλής συγκέντρωσης νατρίου στα νεφρικά σωληνάκια και σε καταστάσεις υποκαλιαιμίας.

Η έκκριση ρενίνης οδηγεί στην παραγωγή αγγειοτενσίνης I από το αγγειοτενσινογόνο, μια πρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ. Η αγγειοτενσίνη I, στη συνέχεια, μέσω της δράσης του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης μετατρέπεται στην αγγειοτενσίνη II, το μοναδικό δραστικό μόριο αγγειοτενσίνης.





Σχήμα 1: Σχεδιάγραμμα στεροειδογένεσης

Το σχήμα έχει ληφθεί από το άρθρο *Congenital Adrenal Hyperplasia—Current Insights in Pathophysiology, Diagnostics, and Management*, Hedi L. Claahsen - van der Grinten et al. *Endocrine Reviews*, 2021, Vol. XX, No. XX, 1–69 doi:10.1210/endrev/bnab016

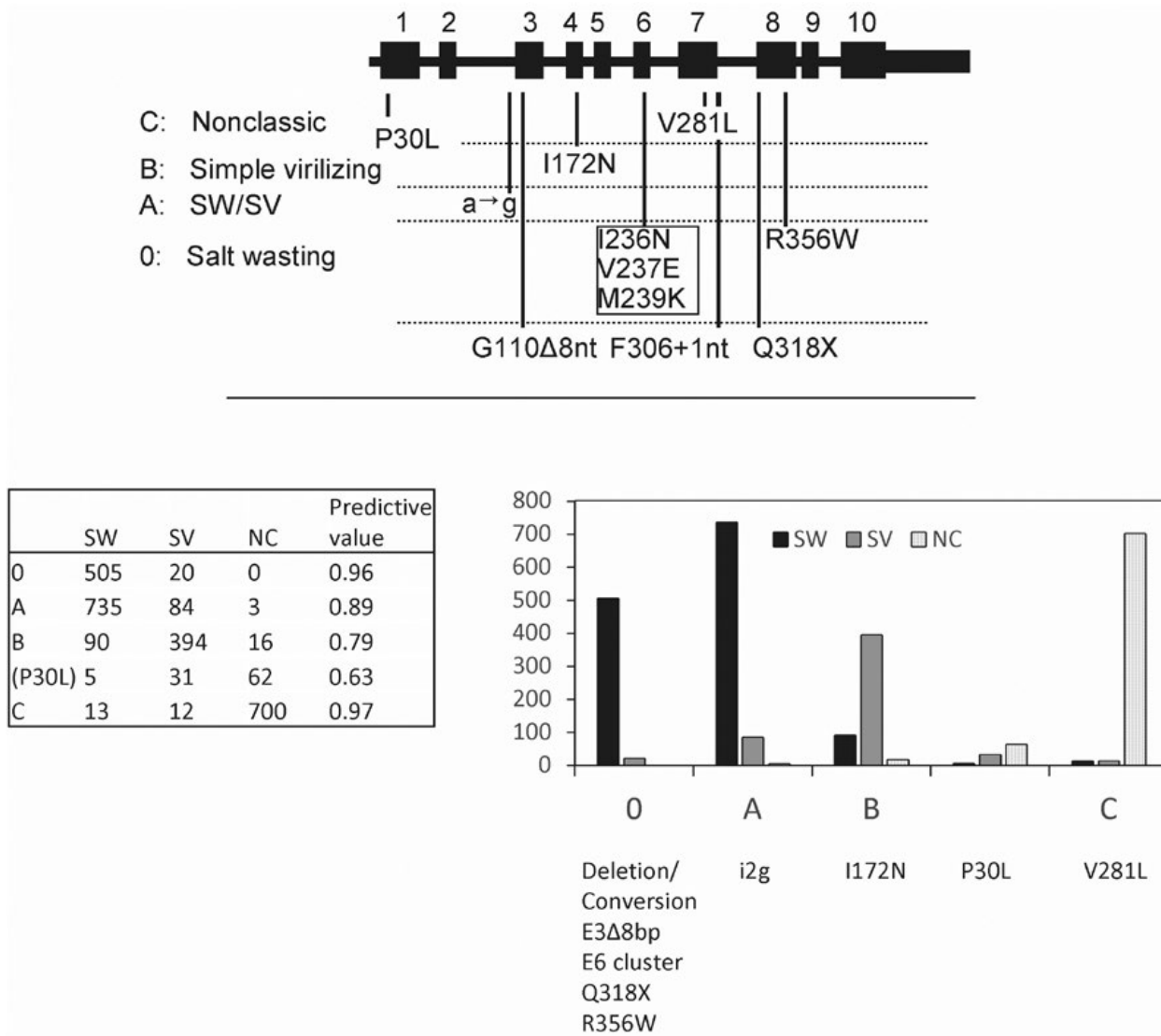
### 3. Γενετική βάση της ΣΥΕ

Εως σήμερα έχουν ανακαλυφθεί 127 μεταλλάξεις στο γονίδιο CYP21A2 οι οποίες αφορούν από μερική μέχρι πλήρη απώλεια της ενζυμικής δραστηριότητας της 21 –υδροξυλάσης. Περίπου 10-12 μεταλλάξεις αφορούν την πλειοψηφία των αλληλόμορφων γονιδίων ενώ οι περισσότερες από αυτές τις μεταλλάξεις προκύπτουν από τον ανασυνδυασμό μεταξύ του ενεργού γονιδίου CYP21A2 και του ομόλογου μη λειτουργικού ψεύδο-γονιδίου CYP21A1P.

Τα γονίδια CYP21A2 και CYP21A1P βρίσκονται πολύ κοντά στην περιοχή HLA στο χρωμόσωμα 6p21.3. Η πλειοψηφία των μεταλλάξεων που έχουν αναγνωριστεί έως σήμερα προκαλούν σοβαρή μείωση της λειτουργίας της 21 υδροξυλάσης που σχετίζεται με την απλή αρρενοποιητική μορφή ή την μορφή απώλειας άλατος και οδηγούν σε 0-5% απώλεια της δράσης του ενζύμου.

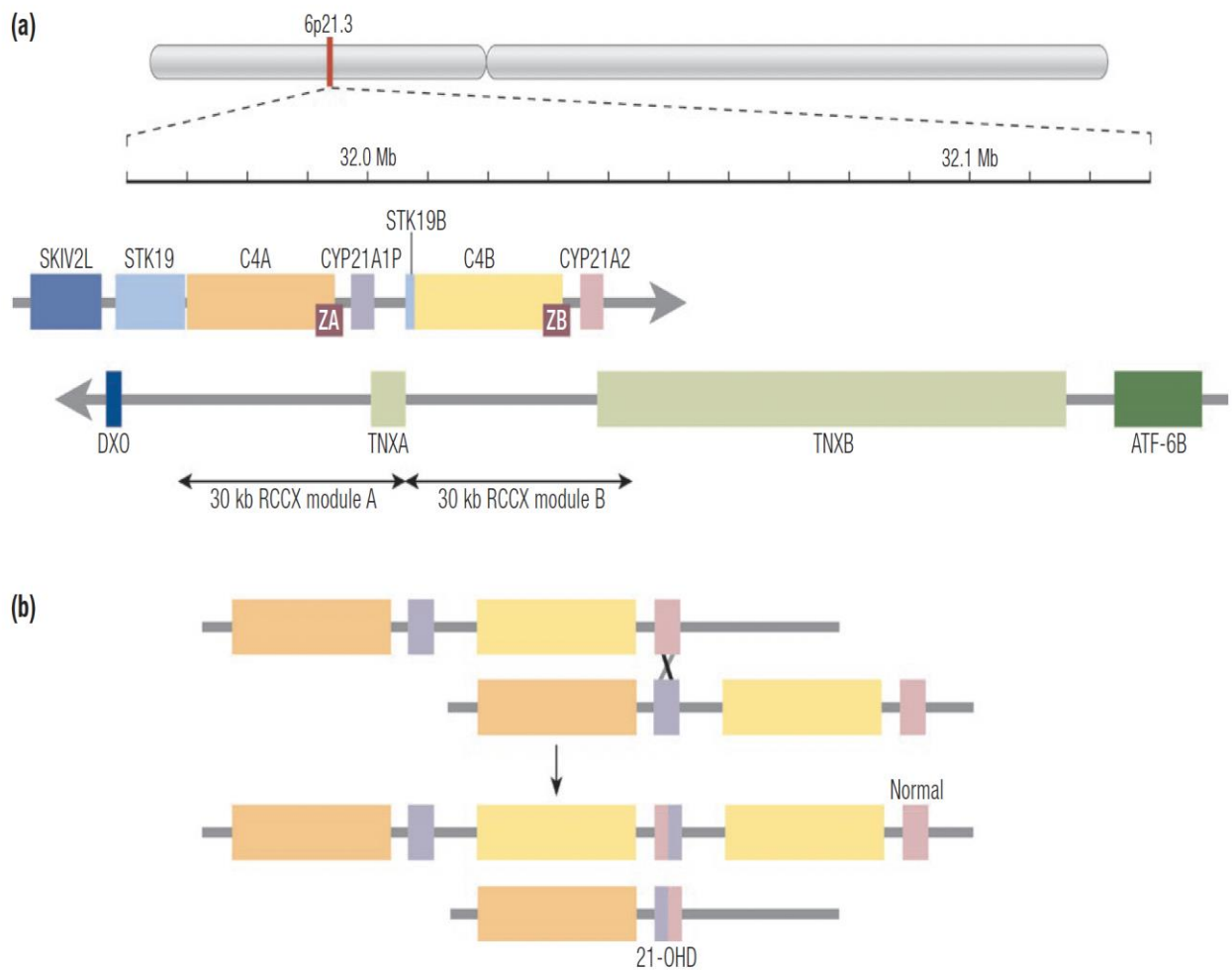
Γενικά , ο φαινότυπος συσχετίζεται με τον μοριακό γονότυπο και αντανακλά την υπολειπόμενη ενζυματική δράση των πιο ήπιων μεταλλάξεων. Συνεπώς, οι ασθενείς με την απλή αρρενοποιητική μορφή μπορεί να φέρουν μια μετάλλαξη πλήρους απώλειας σε ένα αλληλόμορφο γονίδιο και P172N ή μετάλλαξη συναρμογής στο ιντρόνιο 2 του άλλου αλληλομορφού γονιδίου. Ασθενείς με την μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ είναι συχνά ετεροζυγώτες που φέρουν διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου CYP21A2 σε κάθε αλληλόμορφο.

Η παρανοηματική μετάλλαξη V281L εμφανίζεται σε τουλάχιστον ένα από τα CYP21A2 αλληλόμορφα γονίδια στους περισσότερους ασθενείς με μη κλασσική ΣΥΕ. Αυτή η γονιδιακή παραλλαγή εμφανίζεται συχνά σε ασθενείς της Ανατολικής Ευρώπης, ειδικά σε όσους έχουν καταγωγή από τους Ασκενάζι Εβραίους. Άλλες παρανοηματικές μεταλλάξεις που σχετίζονται με την μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ είναι οι P30L, P453S, και R339H, ενώ πρωτότυπες μεταλλάξεις είναι οι R369W και I230T. Ένα με δύο τρίτα των ασθενών με μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ φέρουν ένα αλληλόμορφο γονίδιο που κωδικοποιεί μια σοβαρή διαταραχή στην ενζυματική δράση της 21 υδροξυλάσης ( που θα οδηγούσε σε κλασσική μορφή της ΣΥΕ αν αφορούσε και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια) και ένα αλληλόμορφο γονίδιο που κωδικοποιεί μια πιο ήπια μορφή ενζυματικής δυσλειτουργία



Σχήμα 2. Η δομή του γονιδίου CYP21A2. Τα εξόνια αναγράφονται με αριθμούς ενώ στους πίνακες και στο ιστόγραμμα φαίνεται η συσχέτιση των διάφορων μορφών της ΣΥΕ με τις αντίστοιχες μεταλλάξεις.

Το σχήμα έχει ληφθεί από το άρθρο *Congenital Adrenal Hyperplasia—Current Insights in Pathophysiology, Diagnostics, and Management*, Hedi L. Claahsen - van der Grinten et al. *Endocrine Reviews*, 2021, Vol. XX, No. XX, 1–69 doi:10.1210/edrev/bnab016



Σχήμα 3. Α) Η περιοχή του γονιδίου CYP21 στο χρωμόσωμα 6p21.3. Η κλίμακα διαχωρίζεται ανά 10 kb. Β) Αναπαράσταση crossing over κατά την μείωση που οδηγεί στην δημιουργία μετάλλαξης στο γονίδιο CYP21 που αντιπροσωπεύει αλληλόμορφο γονίδιο σχετιζόμενο με την ανεπάρκεια της 21 υδροξυλάσης που προκαλεί την κλασική με απώλεια άλατος μορφή.

Το σχήμα έχει ληφθεί από το άρθρο *Congenital Adrenal Hyperplasia—Current Insights in Pathophysiology, Diagnostics, and Management*, Hedi L. Claahsen - van der Grinten et al. *Endocrine Reviews*, 2021, Vol. XX, No. XX, 1–69 doi:10.1210/endrev/bnab016

#### 4. Παθογενετικοί μηχανισμοί της ΣΥΕ

Η στεροειδογένηση στον φλοιό των επινεφριδίων στην ΣΥΕ συνίσταται στις αντιδράσεις που καταλύονται από τα ένζυμα CYP21A2, 3β-υδροξυβουτιρική δεϋδρογονάση τύπου 2 (3BHSD2), κυτόχρωμα P450c21 και σε μικρότερο βαθμό το κυτόχρωμα, P450c11b (CYP11B1). Η συσσώρευση πρόδρομων των στεροειδών ορμονών ουσιών εξαιτίας της απώλειας της δράσης του P450c21 οδηγεί στην συγκέντρωση άλλων ενδιάμεσων στεροειδών ορμονών.

Στην ΣΥΕ, παρατηρείται ένα εναλλακτικό μονοπάτι παραγωγής στεροειδών ορμονών. Μέσω της δράσης της 17,20 λυάσης, οι 17 υδροξυπρεγνενολόνη και 17 υδροξυπρογεστερόνη (17-OHP), μετατρέπονται σε πιο ισχυρά ανδρογόνα, όπως η δεϋδροανδοστερόνη. Στα θήλαα έμβρυα, τα αυξημένα επίπεδα της 17 OHP μπορούν να οδηγήσουν με την σειρά τους σε αυξημένα επίπεδα δεϋδροτεστοστερόνης που εξηγεί και την παρουσία αμφίβολων γεννητικών οργάνων.

Κάποιες παρανοηματικές μεταλλάξεις του CYP21A2 αλλάζουν τις κινητικές ιδιότητες του ενζύμου. Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη παράγεται κανονικά αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματική από του άγριου τύπου με αποτέλεσμα πάλι να παράγονται σε μεγαλύτερο βαθμό πρόδρομες ουσίες των στεροειδών ορμονών ανεξαρτήτως των επιπέδων της ACTH. Σε αυτές τις περιπτώσεις τα επίπεδα της 17 OHP και της 17 υδροξυπρεγνενολόνης μπορούν να παραμείνουν υψηλά παρά την χορήγηση γλυκοκορτικοειδών<sup>5</sup>.

Οι ασθενείς με μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ συνήθως δεν παρουσιάζουν υπερέκκριση της ACTH ή της CRH και σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν εμφανίζουν ενισχυμένη απάντηση στην διέγερση της ACTH, πιθανόν από την ήπια υπερπλασία των επινεφριδίων. Οι ασθενείς με κλασσική μορφή της ΣΥΕ, παρουσιάζουν την μεγαλύτερη απάντηση αναφορικά με την έκκριση της ACTH μετά την διέγερση με ο-CRH.

Στα θήλεα με ΣΥΕ, παρατηρούνται αλλαγές την λειτουργία του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών με υπερέκκριση των ανδρογόνων και την εμφάνιση ενός φαινότυπου παρόμοιου με του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Η αιτιολογία του φαινοτύπου αυτού, έγκειται στην διαταραχή του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών λόγω συνεχώς αυξημένων επιπέδων 17 ΟΗΡ και ανδρογόνων, στην έκφρασης της 5 α -ρεδουκτάσης στις ωοθήκες και στην άμεση επίδραση των γλυκοκορτικοειδών. Η υπερπαραγωγή των ανδρογόνων, αναστέλλει την αντίδραση του υποθαλάμου στην προγεστερόνη οδηγώντας σε αυξημένη συχνότητα ουδών GnRH που ευνοεί την υπερέκκριση της ωχρινοτρόπου ορμόνης LH. Η υπερέκκριση της LH μπορεί να άγει και να διατηρήσει ένα φαύλο κύκλο όπου η υπερβολική έκκριση των ανδρογόνων από τις ωοθήκες επιδεινώνει τις συνέπειες της υπερβολικής έκκρισης των επινεφριδιακών ανδρογόνων.

Γυναίκες με ΣΥΕ, παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα LH από μη ασθενείς ενώ η υπερβολική έκκριση ανδρογόνων in utero μπορεί να προκαλεί αλλαγή στην λειτουργία του υποθαλάμου και σε υπερέκκριση της LH καθώς και στην διαταραχές αναπαραγωγής που παρατηρούνται σε γυναίκες με κλασική μορφή ΣΥΕ. Αντίθετα, σε γυναίκες με μη κλασική μορφή ΣΥΕ, η in utero έκθεση σε ανδρογόνα δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθολογία τους.

## 5. Κλινική συμπτωματολογία

### 5.1 Βρεφική ηλικία

Τα θήλεα της βρεφικής ηλικίας που πάσχουν από την κλασσική μορφή της ΣΥΕ εμφανίζουν αμφίβολα γεννητικά όργανα λόγω της έκθεσης στα ανδρογόνα από περίπου την έκτη εβδομάδα της κύησης. Τα εξωτερικά γεννητικά όργανα των θηλέων νεογνών με κλασσική μορφή ΣΥΕ εμφανίζουν κλειτοριδομεγαλία, μερική σύμφυση των μεγάλων χειλέων του αιδοίου και ένα κοινό ουρογεννητικό κόλπο στην θέση της διαχωρισμένης ουρήθρας και κόλπου. Το μέγεθος της αρρενοποίησης εκτείνεται από την εμφάνιση σχεδόν ανδρικών γεννητικών εξωτερικών οργάνων, συμπεριλαμβανομένου του σπογγώδους σώματος της ουρήθρας μέχρι ήπια κλειτοριδομεγαλία. Σε περιπτώσεις σοβαρού βαθμού αρρενοποίησης, μπορεί να αποδοθεί στον θήλυ νεογνό λανθασμένα το φύλο του άρρενος.

Αναφορικά με τα εσωτερικά γεννητικά όργανα, οι δομές που προέρχονται από το Μυλλέριο πόρο αναπτύσσονται κανονικά στα θήλεα, η θέση των ωοθηκών παραμένει σταθερή και οι δομές που προέρχονται από τον πόρο του Wolff παλινδρομούν. Συνήθως τα κορίτσια με κλασσική μορφή ΣΥΕ διαγιγνώσκονται αμέσως μετά την γέννηση λόγω των αμφίβολων γεννητικών οργάνων, ακόμα και πριν εμφανίσουν ηλεκτρολυτικές διαταραχές<sup>6</sup>, εκτός από ασθενείς με ήπια κλειτοριδομεγαλία που διαγιγνώσκονται κατά την διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής.

Στα άρρενα νεογνά με κλασσική μορφή ΣΥΕ, η ανάπτυξη των εξωτερικών γεννητικών οργάνων είναι φυσιολογική εκτός από υπέρχρωση του όσχεου που εμφανίζεται σε ορισμένους ασθενείς. Συνήθως η διάγνωση των αγοριών με κλασσική μορφή ΣΥΕ πραγματοποιείται κατά την προσχολική ηλικία. Τόσο τα άρρενα όσο και τα θήλεα νεογνά με κλασσική μορφή ΣΥΕ, μπορούν να εμφανίσουν κατά την νεογνική περίοδο, υπονατριαμική υπερκαλιαιμική αφυδάτωση, εμέτους, λήθαργο, απώλεια βάρους, ακόμη και shock.

Τα βρέφη με μη κλασσική ΣΥΕ, λόγω επαρκών επιπέδων κορτιζόλης δεν εμφανίζουν την άνωθεν συμπτωματολογία και συνήθως η διάγνωσή τους πραγματοποιείται κατά την παιδική ή εφηβική ηλικία.

## 5.2 Παιδική ηλικία

Τα παιδιά με μη κλασσική ΣΥΕ, εμφανίζονται συνήθως κατά την παιδική ηλικία με πρόωμη αδρεναρχή, που ορίζεται ως την εμφάνιση τρίχωσης του εφηβαίου, τρίχωσης των μασχαλών και δυσσομίας των μασχαλών τύπου ενήλικα πριν την ηλικία των 8 ετών στα κορίτσια και 9 ετών στα αγόρια. Επιπρόσθετα χαρακτηριστικά είναι η επιτάχυνση της οστικής ανάπτυξης και αύξηση του ύψους. Σε ορισμένα κορίτσια με μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ, μπορεί να παρατηρηθεί και κλειτοριδομεγαλία χωρίς την παρουσία αμφίβολων γεννητικών οργάνων ενώ σε αγόρια με μη κλασσική ΣΥΕ εμφανίζεται σε ορισμένες περιπτώσεις μεγέθυνση πέους με προ-εφηβικό όγκο όρχεων. Οι ασθενείς με ΣΥΕ παρά το γεγονός ότι είναι ψηλοί/ες στην παιδική ηλικία, καταλήγουν να έχουν μικρότερο τελικό ύψος στην ενήλικη ζωή εξαιτίας της πρόωμης σύμφυσης των επιφύσεων των οστών.

## 5.3 Εφηβεία και ενήλικη ζωή

Οι ασθενείς με μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ εμφανίζουν χαρακτηριστικά σημεία υπερβολική έκκρισης ανδρογόνων και όχι συμπτώματα ανεπάρκειας κορτικοστεροειδών. Κατά την εφηβεία, λόγω πιο πρόδηλων συμπτωμάτων είναι πιο συχνή η διάγνωση των κοριτσιών. Κοινά συμπτώματα είναι η ακμή, ο δασυτριχισμός, διαταραχές της έμμηνου ρύσης, ανδρικού τύπου φαλάκρα και διαταραχές γονιμότητας λόγω ανωορρηκτικού κύκλου. Στα αγόρια, σπάνια είναι η γυναικομαστία και η παρουσία τυχαίων όγκων του φλοιού των επινεφριδίων.

Η ακμή μπορεί να είναι το πρώτο σύμπτωμα των ασθενών με μη κλασσική μορφή ΣΥΕ και η οποία συνήθως δεν ανταποκρίνεται σε αντιβιοτική θεραπεία ή θεραπεία με ρετινοϊκό οξύ. Η φαλάκρα ανδρικού τύπου στις γυναίκες είναι επίσης ένα χαρακτηριστικό σύμπτωμα που έχει αναγνωριστεί μόνο στην ΣΥΕ. Ο δασυτριχισμός, που θα πρέπει να διαχωρίζεται από την υπερτρίχωση, είναι η υπερβολική ανάπτυξη τριχοφυΐας σε περιοχές που βρίσκονται κάτω από την επιρροή των ανδρογόνων αλλά εξαιτίας κοσμητικών παρεμβάσεων πολλές φορές δεν είναι



εμφανείς ενώ θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και διαφορές λόγω εθνότητα και καταγωγής. Για την κατάταξη του δασυτριχισμού συχνά χρησιμοποιείται το Ferriman-Gallwey σύστημα.

Επιπρόσθετα, οι γυναίκες με ΣΥΕ εμφανίζουν διαταραχές στην γονιμοποίηση και αναπαραγωγή λόγω πρωτοπαθούς ή δευτεροπαθούς αμηνόρροιας.<sup>7</sup> Συνήθως, ο υπέρηχος πυέλου, επιδεικνύει διαταραχές των ωθηκών ανάλογων των μορφολογικών αλλαγών που εμφανίζονται στις γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών. Συχνά οι γυναίκες με μη κλασσική ΣΥΕ, παρουσιάζουν ως πρωτοπαθές σύμπτωμα διαταραχές τη έμμηνου ρύσης που δύναται να υφίστανται ακόμα και μετά την θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή. Πολλές γυναίκες με κλασσική και μη ΣΥΕ, εμφανίζουν προβλήματα αναπαραγωγής που οφείλονται σε αρκετούς παράγοντες. Αρχικά, τα αυξημένα επίπεδα προγεστερόνης, 17 OHP και P4 κατά την ωοθυλακική φάση επηρεάζουν την κολπική βλέννα, αναστέλλουν την ωρίμανση του ενδομητρίου και εμποδίζουν την εμφύτευση του ωαρίου. Επιπρόσθετα, οδηγούν σε ωθηκική δυσλειτουργία και ανοωοθυλακικούς κύκλους. Για τις γυναίκες με κλασσική ΣΥΕ, σημαντικά είναι τα θέματα που σχετίζονται με την σεξουαλική τους ταυτότητα και εμπειρία.

Ενδεικτικά οι γυναίκες με κλασσική ΣΥΕ, παρουσιάζουν μικρό κόλπο, μειωμένη εφύγραση, δυσπαρεύνια καθώς και stress σχετικά με την εμφάνιση των γεννητικών τους οργάνων και τις σεξουαλικές τους προτιμήσεις<sup>8,9</sup>.

## **5.4 Επιπρόσθετες εκδηλώσεις**

### **Πρώιμη εφηβαρχή.**

Η σκελετική ωρίμανση των ασθενών με ΣΥΕ επιταχύνεται σημαντικά και μπορεί να σχετίζεται με πρώιμη εφηβαρχή εξαρτώμενη από γοναδοτροπίνες. Σε αυτές τις περιπτώσεις, παρατηρείται ρυθμική έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο που προκαλεί αύξηση της LH και FSH με αποτέλεσμα την αύξηση των γοναδικών στεροειδών. Κάποιοι ασθενείς με GnRH εξαρτώμενη

εφηβραρχή, μπορούν να ωφεληθούν από την θεραπεία με αγωνιστές της GnRH, όπως η λευπρολίδη.

### **Οστική πυκνότητα**

Η θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή επηρεάζει την οστική πυκνότητα λόγω μείωσης της δράσης των οστεοβλαστών, αύξησης της οστική απορρόφησης και λόγω επίδρασης με την απορρόφηση του ασβεστίου από τους οστεοκλάστες. Αντιθέτως, ανεπαρκή θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη οστική πυκνότητα λόγω αύξησης των ανδρογόνων. Συνεπώς, συνίσταται στενή παρακολούθηση της οστικής πυκνότητας, μέσω DEXA scan ειδικά σε μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς και χορήγηση βιταμίνης D, όπου χρειάζεται.

### **Δράση του μυελού των επινεφριδίων**

Σε ορισμένους ασθενείς με ΣΥΕ, έχει περιγραφεί υποπλασία του μυελού των επινεφριδίων και ανεπαρκής έκκριση επινεφρίνης, που πιστεύεται ότι οφείλεται στην επαγωγή του ενζύμου φενυλεθаноλαμίνη N μεθυλτρανσφεράση, που καταλύει την μετατροπή της νορεπινεφρίνης σε επινεφρίνη<sup>10</sup>.

### **Όγκοι όρχεων και επινεφριδίων**

Κατά την εμβρυική ζωή, προγεννητικά κύτταρα των επινεφριδίων μετακινούνται στο όσχεο και διατηρούν την ανταπόκριση στην ACTH, γεγονός που προδιαθέτει στην εμφάνιση όγκου των όρχεων. Τέτοιοι όγκοι έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με κλασική ΣΥΕ και μη συμμόρφωση με την θεραπεία. Επινεφριδιακοί όγκοι, είναι σπάνιοι σε ασθενείς με ΣΥΕ, με σποραδικές περιπτώσεις, που έχουν περιγραφεί σε ασθενείς που δεν λάμβαναν θεραπεία.

## **Αναπαραγωγική ικανότητα στους άντρες**

Η θεραπεία των αρρένων ασθενών με μη κλασική μορφή ΣΥΕ, οφελεί την αναπαραγωγική ικανότητα, καθώς, η υπερεπάρκεια των επινεφριδιακών ανδρογόνων μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη αρωματοποίηση των ανδρογόνων σε οιστρογόνα με αποτέλεσμα τον υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό, ατροφία των όρχεων και ολιγοσπερμία<sup>11</sup>.

## **6. Διάγνωση**

### **6.1 Κλινική διάγνωση**

Τα θήλεα με κλασική ΣΥΕ, διαγιγνώσκονται βάσει της παρουσίας αμφιβόλων γεννητικών οργάνων. Κατά την αρχική φυσική εξέταση θα πρέπει να σημειώνονται η συμμετρία των εξωτερικών γεννητικών οργάνων, η θέση των γονάδων, η μελανότητα του δέρματος όπως επίσης ο βαθμός της σύμφυσης των γεννητικών πτυχών και η θέση του έξω στομίου της ουρήθρας. Τα θήλεα με μη κλασική ΣΥΕ, εμφανίζουν αρκετά χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά ασθενών με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και παιδιών με πρόωμη αδρεναρχή.

### **6.2 Εργαστηριακή διάγνωση**

Για την κλασική ανεπάρκεια της 21 υδροξυλάσης, η παρουσία πολύ υψηλών επιπέδων 17-OHP στον ορό του αίματος ( πάνω από 242 nmol/L, με φυσιολογικές τιμές να θεωρούνται κάτω από 3 nmol/L σε 3 ημερών τελειόμηνο νεογνό) θεωρείται διαγνωστική. Οι ασθενείς με μορφή απώλειας άλατος έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις 17-OHP από τους υπόλοιπους ασθενείς με ΣΥΕ. Ψευδώς θετικά αποτελέσματα από τον έλεγχο των νεογνών παρατηρούνται σε πρόωρα νεογνά και αρκετά προγράμματα έχουν καθιερώσει τιμές αναφοράς βασισμένες στην ηλικία κύησης και στο

βάρος γέννησης. Σε περιπτώσεις οριακών τιμών 17-OHP, χρησιμοποιείται το τεστ κορτικοτροπίνης. Η γονιδιακή ανάλυση χρησιμοποιείται συμπληρωματικά για την επιβεβαίωση της διάγνωσης.

Στην μη κλασσική ΣΥΕ, η μέτρηση της 17 OHP δεν είναι διαγνωστική, καθώς μπορεί να βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Συνεπώς, στην μη κλασσική ΣΥΕ, το τεστ διέγερσης με ACTH παραμένει το gold standard. Κατά το τεστ διέγερσης με ACTH, αρχικά λαμβάνεται ένα δείγμα αίματος με βασικά επίπεδα ορμονών. Στην συνέχεια, χορηγείται συνθετική ACTH και λαμβάνεται ένα δεύτερο δείγμα 30- 60 λεπτά μετά. Το τεστ θεωρείται θετικό όταν τα επίπεδα της 17 OHP ξεπερνούν τα 1500ng/dl, ενώ έχουν περιγραφεί και ορισμένες περιπτώσεις μη κλασσικής ΣΥΕ όπου τα επίπεδα της 17 OHP ήταν 1000 με 1500 ng/dl. Επίπεδα 17OHP μεταξύ 170 με 300 ng/dl, όταν λαμβάνονται νωρίς το πρωί και στις γυναίκες κατά την θυλακιώδη φάση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν screening tool<sup>12</sup>.

### **6.3 Προληπτικός έλεγχος νεογνών**

Ο προληπτικός έλεγχος νεογνών αποτελεί ένα σημαντικό screening tool για την διάγνωση της ΣΥΕ. Νεογνά με την μορφή απώλειας άλατος και την κλασσική μορφή μπορούν να ανιχνευθούν κατά την νεογνική περίοδο. Νεογνά με μη κλασσική ΣΥΕ δεν μπορούν να ανιχνευθούν μέσω του προληπτικού ελέγχου καθώς τα επίπεδα της 17 OHP είναι πολύ χαμηλότερα από αυτά των νεογνών με ΣΥΕ. Επιπρόσθετοι παράγοντες ανεπαρκούς ανίχνευσης της ΣΥΕ μέσω του προληπτικού νεογνικού ελέγχου είναι η προωρότητα αλλά και περιπτώσεις ασθένειας νεογνών με ΣΥΕ.

#### 6.4 Γενετικός έλεγχος

Το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο της 21 υδροξυλάσης βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6p21.3 εντός του συστήματος αντιγόνων ιστοσυμβατότητας. Υπάρχουν 2 ομόλογα γονίδια 21 υδροξυλάσης, ένα ενεργό γονίδιο CYP21A2 και ένα ανενεργό ψευδογονίδιο CYP21A1P. Τα περισσότερα αλληλόμορφα γονίδια προκύπτουν από ανασυνδυασμούς μεταξύ των ψεύδο και ενεργών γονιδίων. Σε 1-2% των ασθενών με ΣΥΕ παρατηρούνται τυχαίες μεταλλάξεις. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν διαφορετικές μεταλλάξεις σε κάθε αλληλόμορφο γονίδιο και ο φαινότυπός τους σχετίζεται με το λιγότερο προσβεβλημένο γονίδιο. Επίσης μεταλλάξεις μπορούν να συμβούν και στο ίδιο αλληλόμορφο γονίδιο.

Συνεπώς, όταν ο γενετικός έλεγχος αρκετές φορές αποδεικνύεται πολύπλοκος και τα περισσότερα εργαστήρια ελέγχουν για τις 10 με 12 πιο κοινές μεταλλάξεις. Ο γενετικός έλεγχος επίσης των γονέων συμβάλλει στον διάκριση μεταξύ των αποκλίσεων στο ίδιο η διαφορετικό αλληλόμορφο γονίδιο. Ο γενετικός έλεγχος δεν συνίσταται σαν πρώτος διαγνωστικός έλεγχος αλλά μπορεί να φανεί χρήσιμος σε ασθενείς με ΣΥΕ που επιθυμούν να αποκτήσουν παιδιά και χρήζουν προγενετικής καθοδήγησης. Ο γενετικός έλεγχος μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί στην αναγνώριση των ετεροζυγοτών. Παρολ' αυτά, η μέτρηση βασικών επιπέδων της 17 OHP και η επιβεβαίωση με την πρόκληση με ACTH παραμένει ο προτεινόμενος τρόπος διάγνωσης της ΣΥΕ.

## 7. Θεραπεία

Η θεραπεία της ΣΥΕ στηρίζεται κατα πρωταρχικό λόγο στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων και όχι στην επιστροφή των ορμονών σε φυσιολογικά επίπεδα. Οι στόχοι της θεραπείας πρέπει να είναι η επίτευξη της φυσιολογικής ανάπτυξης του παιδιού σε ύψος και βάρος, η σωστή σκελετική ωρίμανση και η φυσιολογική έναρξη της εφηβείας. Στις γυναίκες ασθενείς σημαντική επίσης είναι η ομαλοποίηση του έμμηνου κύκλου, η γονιμότητα και η αντιμετώπιση της ακμής και της υπερτρίχωσης.

Ο εργαστηριακός έλεγχος για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας περιλαμβάνει την επαναφορά σε φυσιολογικά επίπεδα της ανδροστενεδιόνης και της τεστοστερόνης. Τα επίπεδα της DHEAS μπορούν συνήθως καταστέλλονται με μικρές δόσεις γλυκοκορτικοειδών. Η επιστροφή σε φυσιολογικά επίπεδα της 17 OHP και P4, αποτελεί ένδειξη υπερβολικής ορμονικής αντικατάστασης, εκτός περιπτώσεων που οι ασθενείς επιθυμούν μια εγκυμοσύνη<sup>13,14</sup>.

Η βασική θεραπεία των παιδιών με ΣΥΕ είναι η υδροκορτιζόνη που συνήθως δοσολογείται ως 6 με 15 mg/m<sup>2</sup> την ημέρα σε 2 με 3 δόσεις. Σε μια προσπάθεια εφαρμογής του κιρκάδιου ρυθμού, ορισμένοι γιατροί συνιστούν την χορήγηση της μεγαλύτερης δόσης της υδροκορτιζόνης την νύχτα. Η αντικατάσταση των αλατοκορτικοειδών πραγματοποιείται με την 9 α φλουδροκορτιζόνη με στόχο την επίτευξη φυσιολογικών επιπέδων ρενίνης. Τα βρέφη, συνήθως χρειάζονται μεγαλύτερες δόσεις αλατοκορτικοειδών λόγω ανεπαρκούς άλατος στην τροφή τους, παροδικού ψευδοϋποαλδοστερονισμού και μη ολοκληρωμένη ανάπτυξη των νεφρώνων.

Σε περιπτώσεις σωματικού ή ψυχολογικού στρες, απαραίτητη είναι η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών σε δόσεις στρες. Όταν οι ασθενείς μπορούν να λάβουν θεραπεία από του στόματος, η στρες δόση είναι 45 mg/m<sup>2</sup>(ανά επιφάνεια σώματος) ή τριπλάσια ποσότητα της συνήθους δόσης. Σε περιπτώσεις χειρουργικών επεμβάσεων, επειγόντων ιατρικών παρεμβάσεων και τοκετού, η στρες δόση χορηγείται ενδοφλεβίως ή ενδομυϊκώς με την μορφή υδροκορτιζόνης 100 mg. Όλοι οι ασθενείς και οι οικογένειες τους θα πρέπει να επιμορφώνονται σχετικά με την χορήγηση από του στόματος και ενδομυϊκής μορφής στρες δόσης υδροκορτιζόνης αλλά και να

φέρουν ένα βραχιόλι που να αναγράφει την ασθένεια τους και την απαραίτητη θεραπεία σε καταστάσεις ιατρικών επειγόντων.

Καθώς οι γυναίκες με κλασική ΣΥΕ μπορούν να αναπτύξουν παθολογία συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών, θεραπεία με αντισυλληπτικά συνιστάται σε αυτές τις περιπτώσεις. Στις γυναίκες με μη κλασική ΣΥΕ, αντισυλληπτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την θεραπεία της oligομηνόρροια, της ακμή και της υπερτρίχωσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, σοβαρής ανδρικής αλωπεκίας, αντί ανδρογόνα όπως η συπροτερόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί, παρά την παρουσία μικρών αυξήσεων της τεστοστερόνης και ανδροστενεδίωνης. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι καθώς η έκκριση των επινεφριδιακών ανδρογόνων μειώνεται με την ηλικία, η θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή μπορεί να περιοριστεί αναφορικά με την δόση. Πέρα από την φαρμακευτική θεραπεία, κορίτσια με κλασική ΣΥΕ και αμφίβολα γεννητικά όργανα, συχνά υπόκεινται σε πλαστική χειρουργική επέμβαση των εξωτερικών γεννητικών οργάνων στο πρώτο χρόνο της ζωής.

#### **8. Φορείς της ανεπάρκειας του ενζύμου της 21-υδροξυλάσης**

Η συχνότητα των φορέων της ΣΥΕ ποικίλει σημαντικά μεταξύ 1:20 και 1:60 αναλόγως την εθνότητα. Παλαιότερες μελέτες είχαν δείξει πως οι φορείς της ΣΥΕ, έχουν μερική ανεπάρκεια του ενζύμου της 21-υδροξυλάσης καθώς και μεγαλύτερη ανταπόκριση στην δοκιμασία έκλυσης με κορτικοτροπίνη. Ο Michael Peter <sup>15</sup> και οι συνεργάτες του, δημοσίευσαν στο Lancet το 1990 μια μελέτη που αφορούσε 64 φορείς της ανεπάρκειας της 21 υδροξυλάσης, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε δοκιμασία έκλυσης με κορτικοτροπίνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις 17 OHP, στους άνδρες και γυναίκες φορείς της ΣΥΕ σε σύγκριση με τους συγγενείς τους. Επιπρόσθετα τα επίπεδα 11 δεοξυ κορτικοστερόνης μετά από την δοκιμασία έκλυσης με κορτικοτροπίνη ήταν χαμηλότερα από τους μη ετεροζυγώτες συγγενείς τους ενώ τα επίπεδα προγεστερόνης ήταν σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα των φυσιολογικών control.

Σε μια άλλη μελέτη από την Χαρμανδάρη<sup>16</sup> και τους συνεργάτες της, 18 ενήλικες φορείς της ανεπάρκειας της 21 υδροξυλάσης και 16 controls γονείς ασθενών με σύνδρομο Turner εξετάστηκαν και διαπιστώθηκε πως οι ετεροζυγώτες της ΣΥΕ, εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα 17 OHP και ACTH μετά την πρόκληση με CRH ενώ τα επίπεδα της κορτιζόλης και ανδροστενεδιόνης ήταν παρόμοια και στις δυο ομάδες. Στην ίδια μελέτη, ψυχομετρικά ερωτηματολόγια συμπληρώθηκαν από 34 γονείς χωρίς όμως να διαπιστωθεί σημαντική διαφορά στην εμφάνιση σημείων κατάθλιψης, άγχους, κόπωσης και άλλων ψυχομετρικών παραμέτρων.

Από τις παραπάνω μελέτες διαπιστώνεται πως οι ετεροζυγώτες της ΣΥΕ, έχουν μερική ανεπάρκεια του ενζύμου της 21 υδροξυλάσης γεγονός που οδηγεί σε ελλιπή μετατροπή της 17 υδροξυπρογεστερόνης σε 11 δεοξυκορτιζόλη και της προγεστερόνης σε 11 δεοξυκορτικοστερόνης, σε περιπτώσεις έκλυσης με κορτικοτροπίνη. Η έκκριση προδρόμων ουσιών ως απάντηση διέγερσης των επινεφριδίων, δηλώνει την ελλιπή έκκριση κορτιζόλης, του τελικού παραγώγου της δράσης της 21 υδροξυλάσης στην δικτυωτή ζώνη των επινεφριδίων. Η μειωμένη έκκριση κορτιζόλης έχει με την σειρά της ως συνέπεια, την υπεραπαντιντικότητα του υποθαλάμου και την υπερέκκριση της κορτικοελίνης CRH.

## **9. Εκλυτική ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH)**

### **9.1 Η φυσιολογία της CRH**

Η CRH αποτελεί ένα ενδογενές πεπτίδιο με δράση τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα. Η CRH παλαιότερα είχε λάβει την ονομασία CRF και θεωρούνταν ο ρυθμιστικός παράγοντας της βασικής αλλά και stress προκλυόμενη έκκρισης της ACTH στα πλαίσια της δράσης του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων. Τα τελευταία χρόνια όμως έχουν αναγνωρισθεί και περιγραφεί πολλαπλές δράσεις της CRH σε αρκετές παθήσεις, με έμφαση κυρίως νευρολογικές και ψυχικές ασθένειες.

Η CRH αποτελεί ένα πεπτίδιο 41 αμινοξέων που χαρακτηρίστηκε αρχικά το 1981 από τον Vale ενώ ακολούθως ανακαλύφθηκαν και πεπτίδια ανάλογα της CRH, που ονομάστηκαν ουροκορτίνη



1, 2 και 3. Η δράση των πεπτιδίων αυτών πραγματοποιείται μέσω υποδοχέων G πρωτεϊνών, οι οποίοι έχουν αναγνωριστεί ως υποδοχείς CRH1 και CRH2. Οι υποδοχείς CRH1 και CRH2 παρουσιάζουν 70% ομολογία στην γενετική τους αλληλουχία αλλά παρουσιάζουν διαφορετικές φαρμακολογικές δράσεις. Οι CRH1 υποδοχείς έχουν εντοπιστεί σε πρόσθιο εγκέφαλο και εγκεφαλικό στέλεχος σε χολινεργικούς, ντοπαμινεργικούς και νοραδρενεργικούς νευρώνες. Οι CRH υποδοχείς έχουν επίσης συσχετιστεί με την δράση σεροτονινεργικών μονοπατιών.

Παρά το γεγονός ότι οι CRH υποδοχείς συνδέονται κυρίως με G πρωτεΐνες που έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του κυκλικού cAMP, συμμετέχουν και σε εναλλακτικά μονοπάτια που περιλαμβάνουν την φωσφοκινάση A, την φωσφοκινάση B, την φωσφοκινάση C, τις κινάσες που ενεργοποιούν τα μιτογόνα (MAP κινάσες) και ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις του  $Ca^{+}$ .

Οι υποδοχείς CRH1 έχουν εντοπιστεί κυρίως στην πρόσθια υπόφυση, εγκεφαλικό φλοιό, παρεγκεφαλίδα, αμυγδαλή, ιππόκαμπο και ραβδωτό σώμα ενώ οι υποδοχείς CRH2 εμφανίζονται κυρίως στον μεσεγκέφαλο, στους πυρήνες της ραφής, στον πλάγιο μεσολόβιο και στον υποθάλαμο. Εκτός από το κεντρικό νευρικό σύστημα, η CRH, οι ουροκορτίνες και οι υποδοχείς τους, όπως θα αναφέρουμε και παρακάτω εντοπίζονται σε διάφορα όργανα και ιστούς όπως το γαστρεντερικό σύστημα, το καρδιαγγειακό σύστημα, το ανοσοποιητικό σύστημα, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο σε δράσεις κατά του stress.

Η υποθαλαμική CRH έχει πρωταρχικό ρόλο στην δράση του άξονα ΥΥΕ αλλά δέχεται και δευτερογενή επίδραση από το νευροπεπτίδιο βαζοπρεσίνη. Η βαζοπρεσίνη παράγεται από νευρώνες του παρακοιλιακού πυρήνα του υποθαλάμου (PVN) και έχει περιορισμένη δράση στην ενεργοποίηση του άξονα ΥΥΕ από μόνη της. Παρολ'αυτά, η βαζοπρεσίνη φαίνεται ότι αυξάνει την δράση της CRH στον άξονα ΥΥΕ μέσω συνεργιστικής δράσης στους υποδοχείς της CRH στην πρόσθια υπόφυση<sup>17</sup>.

## 9.2 CRH και στρες

Το στρες περιγράφεται σαν κάποια περιβαλλοντική αλλαγή, είτε εσωτερική είτε εξωτερική, που διαταράσσει την ομοιόσταση του οργανισμού. Οι μηχανισμοί οι οποίοι πυροδοτούνται από τα στρεσογόνα ερεθίσματα διευκολύνουν ή αποσκοπούν στην αποκατάσταση της φυσιολογικής ισορροπίας. Η ανταπόκριση αυτή στο στρες είναι συχνά ωφέλιμη για την προστασία του ατόμου από τραυματισμό και προκαλεί την προσαρμοστικότητα, που είναι μία μαθημένη αντίδραση, σημαντική στην προσαρμογή ενώπιον μελλοντικών δυσχερών περιστάσεων. Σε περίπτωση όμως που η προσαρμοστικότητα δεν επιτυγχάνεται και το στρες είναι παρατεταμένο, παθολογικές αλλαγές συμβαίνουν ως αποτέλεσμα του υπερκορτικοειδισμού, της υπέρτασης και αντικανονικών ανοσοποιητικών και ψυχολογικών αλλαγών.

Τα δυο βασικά στοιχεία που συμμετέχουν στην προσαρμοστική απάντηση του οργανισμού σε συνθήκες που απειλούν την ομοιόστασης του είναι α) ο παράγοντας έκλυσης της κορτικοτροπίνης (CRH) και ο άξονας Υποθάλαμος– Υπόφυση – Επινεφρίδια (ΥΥΕ, Hypothalamic – Pituitary– Adrenal Axis, HPA Axis ) και β) ο υπομέλας τόπος και το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (ΣΝΣ, Locus ceruleus / norepinephrine –LC/NE– sympathetic system).

Τρία μείζονα εγκεφαλικά συστήματα ενεργοποιούνται από το στρες και επηρεάζουν το μηχανισμό του. Αυτά είναι πρώτον, το μεσοφλοιώδες (mesocortical) και το μεσομεταιχμιακό (mesolimbic) ντοπαμινεργικό σύστημα που ενεργοποιούνται από τον υπομέλανα τόπο και το συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Το μεν μεσοφλοιώδες νευρώνει την προμετωπιαία περιοχή, η οποία ενέχεται σε εκτελεστικές και αυτορρυθμιστικές λειτουργίες. Το δε μεσομεταιχμιακό έχει πρωταρχικό ρόλο σε φαινόμενα που σχετίζονται με τη δημιουργία κινήτρων και με το αίσθημα της ανταμοιβής. Το δεύτερο είναι το σύμπλεγμα του αμυγδαλοειδούς πυρήνα και του ιπποκάμπου το οποίο ενεργοποιείται κατά το στρες μέσω κατεχολαμινεργικών νευρώνων. Η ενεργοποίηση του αμυγδαλοειδούς πυρήνα είναι σημαντική για την ανάσυρση των αποθηκευμένων πληροφοριών προκειμένου να γίνει η συναισθηματική ανάλυση της πληροφορίας. Ο ιππόκαμπος φαίνεται ότι ασκεί μείζονα ανασταλτική επίδραση στη δραστηριότητα του αμυγδαλοειδούς πυρήνα αλλά και

στα PVN – CRH και LC/NE συστήματα. Το τρίτο σύστημα που ενεργοποιείται κατά το στρες είναι το προ-οπιόμελανοκορτινικό νευρωνικό σύστημα. Αποτελείται από τους νευρώνες σύνθεσης και παραγωγής της CRH στον PVN και τους LC/NE νευρώνες οι οποίοι αμοιβαία νευρώνουν και νευρώνονται από τα κύτταρα του τοξοειδούς πυρήνα που παράγουν προοπιόμελανοκορτίνη (POMC), προϊόντα της οποίας είναι η βήτα- ενδορφίνη και η άλφα-μελανοκορτίνη<sup>18</sup>.

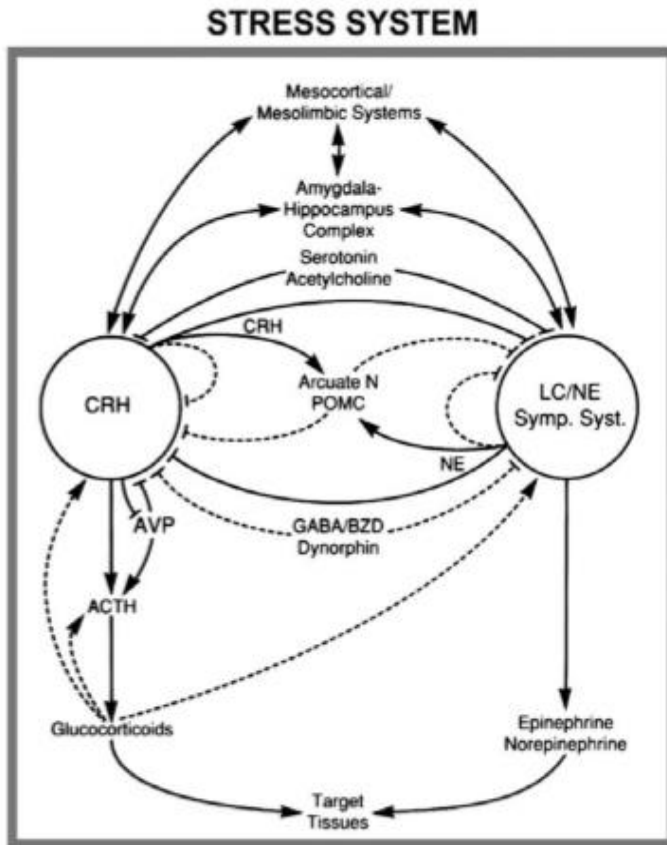
Όπως ήδη αναφέρθηκε, η CRH (εκλυτικός παράγοντας κορτικοτροπίνης) κινεί τις αλλαγές στον άξονα HPA και επίσης κινητοποιεί το συμπαθητικό-επινεφριδιακό σύστημα . Οι νευρώνες της CRH ενεργοποιούνται από έναν αριθμό νευροδιαβιβαστών και νευροτροποποιητών. Τα διεγερτικά σήματα των νευρώνων της CRH περιλαμβάνουν την σεροτονίνη, νοραδρεναλίνη και πεπτίδια, όπως το νευροπεπτίδιο-Y, ενώ τα ανασταλτικά σήματα περιλαμβάνουν το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και τα οπιούχα πεπτίδια. Τα ακριβή μονοπάτια που ενεργοποιούνται από το στρες εξαρτώνται από την φύση του στρεσογόνου ερεθίσματος . Έτσι επιβλαβή ερεθίσματα (όπως π.χ. φλεγμονώδεις ουσίες, μολύνσεις, υπογλυκαιμία) ενεργοποιούν μονοσυναπτικά μονοπάτια της CRH, ενώ στρεσογόνα ψυχολογικά ερεθίσματα ενεργοποιούν νευρώνες CRH στην μεταχιακή-φλοϊκή περιοχή του εγκεφάλου, που εξυπηρετούν συγκινησιακές και γνωστικές λειτουργίες.

Η υπερδραστηριότητα στον άξονα HPA ξεκινά όταν τα στρεσογόνα ερεθίσματα διεγείρουν τον υποθάλαμο. Ο τελευταίος απελευθερώνει CRH, ο οποίος, δρώντας στην υπόφυση, ενεργοποιεί την απελευθέρωση της ACTH . Με τη σειρά της η ACTH, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ενεργοποιεί την απελευθέρωση γλυκοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια. Τα γλυκοκορτικοειδή (μαζί με τη νορεπινεφρίνη και την επινεφρίνη, που αποδεσμεύονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα) ευθύνονται κυρίως για τις αλλαγές που επέρχονται στο σώμα κατά τη διάρκεια των στρεσογόνων καταστάσεων και έχουν σκοπό να μεγιστοποιούν την ικανότητά μας να αντιμετωπίσουμε το στρεσογόνο παράγοντα, με τον οποίο είμαστε αντιμέτωποι.

Οι φυσιολογικές επιδράσεις του CRH μετριάζονται μέσω των υποδοχέων του CRH1 και CRH-2. Η ενεργοποίηση των πρώτων υποδοχέων είναι υπεύθυνη για την αντίδραση «μάχης ή φυγής» (fight or fly), ενώ οι τελευταίοι υποδοχείς είναι υπεύθυνοι για την πιο αργή προσαρμοστική ανταπόκριση και την ανάρρωση από το στρες .Η αντίδραση «μάχης ή φυγής» συμβαίνει, όταν ενεργοποιούνται οι CRF1 υποδοχείς στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου . Οι ίδιοι υποδοχείς ενεργοποιούνται επίσης στα κορτικοτροπικά κύτταρα που είναι τοποθετημένα στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και καταλήγουν στην έκλυση της ACTH .Η ACTH με την σειρά της τότε ενεργοποιεί τον φλοιό των επινεφριδίων, όπου συντίθενται και εκλύονται τα γλυκοκορτικοειδή . Η CRH επίσης ενεργοποιεί τον υπομέλανα τόπο, γεγονός που καταλήγει στην ενεργοποίηση του κεντρικού συμπαθητικού συστήματος, που αποτελεί μέρος του συστήματος ανταπόκρισης στο οξύ στρες.

Το γρήγορο σύστημα ανταπόκρισης είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στην αναστολή της αρνητικής ανάδρασης, καθώς η οξεία αύξηση στην κορτιζόλη και άλλα κορτικοειδή ενεργοποιεί τους μεταλλοκορτικοειδικούς υποδοχείς στην υπόφυση και τον υποθάλαμο και ως εκ τούτου μειώνει την έκλυση του CRH .Αυτό καταλήγει σε μείωση της απελευθέρωσης ACTH από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και, συνεπώς, μειώνει την απελευθέρωση γλυκοκορτικοειδών). Υπό συνθήκες υψηλού στρες ή χρόνιου στρες οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών στον εγκέφαλο είναι κατειλημμένοι . Σε ασθενείς με μείζονα κατάθλιψη, μία κατάσταση που χαρακτηρίζεται από υπερέκκριση κορτιζόλης, συμβαίνει συχνά απευαισθητοποίηση των υποδοχέων των γλυκοκορτικοειδών <sup>19</sup>.Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η ρύθμιση της αρνητικής ανάδρασης δυσλειτουργεί και η υπερέκκριση της κορτιζόλης συνεχίζεται. Αυτό μάλιστα αποδεικνύεται κλινικά, όταν μετά την χορήγηση 1mg του συνθετικού γλυκοκορτικοειδούς δεξαμεθαζόνη, τα επίπεδα κορτιζόλης στο πλάσμα δεν περιορίζονται.

Όσο αφορά την ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH2, η ουροκορτίνη, περισσότερο από τον CRH, είναι κυρίως υπεύθυνη. Η προσαρμοστική ανταπόκριση στο στρες μετριάζεται από τα πεπτίδια, ουροκορτίνη 2 και 3, ενεργοποιώντας τους υποδοχείς CRH 2. Οι ουροκορτίνες συντίθενται στον υποθάλαμο και τις αμυγδαλές και περνούν στον υποθάλαμο και στο στέλεχος του εγκεφάλου, όπου είναι κυρίως τοποθετημένοι οι υποδοχείς CRH2. Η συμπεριφορική προσαρμοστικότητα και οι στρατηγικές αντιμετώπισης είναι συνδεδεμένες με την ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH2.



Εικόνα 1: Αναπαράσταση της επίδρασης CRH και κεντρικού νευρικού συστήματος στο στρες

### 9.3 CRH και κατάθλιψη

Η σεροτονίνη είναι ένας σημαντικός διεγερτικός διαβιβαστής που τροποποιεί την απελευθέρωση της CRH και της AVP. Επιπλέον, η σεροτονίνη ενεργοποιεί τους νευρώνες CRH στον παρακοιλιακό πυρήνα (PVN) και αυξάνει την απελευθέρωση της ACTH.

Υπάρχει μία στενή σχέση ανάμεσα στην συγκέντρωση της κορτιζόλης και της σεροτονίνης στο πλάσμα. Το οξύ στρες που επάγει την αύξηση της κορτιζόλης είναι συνδεδεμένο με αύξηση στον ρυθμό του μεταβολισμού της σεροτονίνης, μία αλλαγή που συνδέεται με την διέγερση της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης, ενός ενζύμου που εμπλέκεται στην δημιουργία σεροτονίνης . Αντίθετα, το χρόνιο στρες που οδηγεί σε παρατεταμένη αύξηση της κορτιζόλης στο πλάσμα, επάγει μείωση στον ρυθμό του μεταβολισμού και την απελευθέρωση της σεροτονίνης . Αυτό ίσως οφείλεται στην ενεργοποίηση της διοξυγενάσης της τρυπτοφάνης (πυρρολάση) στο συκώτι, όπου η τρυπτοφάνη μεταβολίζεται δια μέσου του μονοπατιού τρυπτοφάνης-κινουρενίνης. Με αυτόν τον τρόπο οι αλλαγές στην λειτουργία του σεροτονινεργικού συστήματος καταλήγουν να αντανακλούν την φύση και την διάρκεια του στρεσογόνου ερεθίσματος. Το οξύ στρες συνδέεται με έναν αυξημένο μεταβολικό ρυθμό της σεροτονίνης, ενώ το χρόνιο στρες έχει την αντίθετη επίδραση.

Ο μεταβολικός ρυθμός της σεροτονίνης κατά την διάρκεια του στρες αντανακλάται μέσω των αλλαγών, στον σεροτονινεργικό υποδοχέα 5HT<sub>1A</sub>, και συγκεκριμένα με τις αυξήσεις στην ικανότητα ανταπόκρισης του υποδοχέα κατά την διάρκεια του οξύ στρες και τις μειώσεις που ακολουθούν το χρόνιο στρες . Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει, ότι όταν αρουραίοι εκτίθενται σε ένα στρεσογόνο, υπερπληθές περιβάλλον αγχώνονται, γεγονός που σχετίζεται με μείωση στην λειτουργία των υποδοχέων 5HT<sub>1A</sub> στον ιππόκαμπο . Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι υποδοχείς 5HT<sub>1A</sub> του ιπποκάμπου αναστέλλονται από την κορτιζόλη υπό συνθήκες χρόνιου στρες, μια επίδραση που μετριάζεται από υποδοχείς μεταλλοκορτικοειδών, και σε μικρότερο βαθμό, από υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών. Σε αντίθεση με τους υποδοχείς 5HT<sub>1A</sub>, η συγγένεια του υποδοχέα 5HT<sub>2</sub> με την σεροτονίνη αυξάνεται από το χρόνιο στρες. Είναι πιθανόν ότι οι αλλαγές στους υποδοχείς 5HT<sub>1A</sub> και 5HT<sub>2</sub>, που επάγονται από χρόνιο στρες, συνδέονται μεταξύ τους. Η σύνδεση ανάμεσα

στην μείωση του μεταβολικού ρυθμού της σεροτονίνης ακολουθούμενης από χρόνια στρες και των στρεσο-επαγόμενων αλλαγών στην λειτουργία των σεροτονινεργικών υποδοχέων υποδεικνύεται από την αύξηση στην πυκνότητα των προσυναπτικών υποδοχέων 5HT1B .

Οι υποδοχείς 5HT1B δρουν σαν αυτοϋποδοχείς που, όταν ενεργοποιούνται, μειώνουν την απελευθέρωση της σεροτονίνης . Έτσι, οι επιδράσεις του χρόνιου στρες στην σεροτονινεργική λειτουργία μπορούν να εξηγηθούν ανάλογα με τις διαφορετικές επιδράσεις, σε κάθε περίπτωση, του στρες στην λειτουργία των σεροτονινεργικών υποδοχέων.

Η αύξηση στο άγχος και η δυσλειτουργική προσαρμογή που έχει παρατηρηθεί σε επίμνες που έχουν εκτεθεί στο χρόνια στρες, μπορεί επίσης να εξηγηθεί από τις αλλαγές στην λειτουργική δραστηριότητα των σεροτονινεργικών υποδοχέων, και ιδιαίτερα των υποδοχέων 5HT1A, οι οποίοι βρίσκονται στον μέσο πυρήνα της ραφής και στον ιππόκαμπο .Επιπλέον, οι νευρώνες της ραχιαίας ραφής που προβάλλουν στον ιππόκαμπο και τις αμυγδαλές θεωρείται ότι συνεισφέρουν στις αντιδράσεις που οφείλονται στο άγχος ενεργοποιώντας τους υποδοχείς 5HT2.

Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερέκκριση της κορτιζόλης καταλήγει στην μείωση της τρυπτοφάνης, το πρόδρομο μόριο της σεροτονίνης. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι η ελάττωση της τρυπτοφάνης πυροδοτεί την κατάθλιψη σε μερικούς ασθενείς στην φάση της υποτροπής. Η αλλαγή αυτή είναι συνδεδεμένη, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, με την υπερέκκριση της κορτιζόλης. Ευρήματα, όπως αυτά των πειραματικών και κλινικών μελετών που περιεγράφηκαν, υποστηρίζουν την άποψη ότι το χρόνια στρες, ως αποτέλεσμα της υπερέκκρισης της κορτιζόλης, κινεί έναν καταρράκτη από αλλαγές, ιδιαίτερα το σεροτονινεργικό σύστημα. Αυτές οι αλλαγές έχουν συσχετιστεί με την έναρξη του άγχους και της κατάθλιψης

## 9.4 CRH και εθισμός

Ο εθισμός σε ουσίες αποτελεί μια χρόνια διαταραχή υποτροπής που χαρακτηρίζεται από την απώλεια ελέγχου και την απορρύθμιση συναισθηματικών αποκρίσεων σχετιζόμενων με το στρες. Η CRH παίζει καθοριστικό ρόλο στον εθισμό μέσω της δράσης της στον αμυγδαλοειδή πυρήνα, πυροδοτώντας συμπεριφορές άγχους, αίσθημα έλλειψης ανταμοιβής, παρορμητικές αντιδράσεις και στρες προκλυόμενη αναζήτηση ουσιών. Η ενεργοποίηση των CRH νευρώνων στο μέσο προμετωπιαίο φλοιό επίσης σχετίζεται με την απώλεια ελέγχου. Πολυμορφισμοί στην CRH και τους υποδοχείς της σχετίζονται με διαφορετικούς φαινοτύπους χρηστών ουσιών στους ανθρώπους σε συνάρτηση με ιστορικό στρες. Με βάση τα παραπάνω μελέτες σχετικά με την φαρμακευτική θεραπεία του εθισμού εστιάζονται στην παραγωγή ανταγωνιστών των CRH υποδοχέων.

Ο εθισμός σε ναρκωτικές και χημικές ουσίες μπορεί να χαρακτηριστεί σαν ένα φαύλο κύκλο που διέρχεται από τρία στάδια – την μέθη/ υπερκατανάλωση, την στέρηση και την αδημονία και σταδιακά επιδεινώνεται και οδηγεί σε σοβαρή νευροβιολογική διαταραχή. Το σύστημα της CRH έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται και στα τρία παραπάνω στάδια αλλά κυρίως στο στάδιο της στέρησης και των αρνητικών της επιδράσεων.

Η εθιστική δράση των ναρκωτικών ουσιών ρυθμίζεται από το κοιλιακό ραβδωτό σώμα και εκτείνεται στο σύστημα την ανταμοιβής του αμυγδαλοειδούς πυρήνα, λαμβάνοντας ντοπαμινεργικά και οποιοείδη ερεθίσματα από την κοιλιακή κάλυπτρα και τον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. Παρολ'αυτά για την διατήρηση της συναισθηματικής ομοιόστασης υπάρχει ένα αντιροπιστική σύστημα που μειώνει την διάθεση και την εγρήγορση μέσω καταστολής της δράσης περιοχών του εγκεφάλου όπως το κοιλιακό ραβδωτό σώμα και την ενίσχυση της δράσης των CRH και νορεπινεφρίνης στον αμυγδαλοειδή πυρήνα.

Μετά από την αποτοξίνωση από ουσίες εξάρτησης, τα αρνητικά συμπτώματα παραμένουν για εβδομάδες ή μήνες. Τα συμπτώματα αυτά περιλαμβάνουν τον θυμό, την απογοήτευση, ενοχή και την σύγχυση και ευθύνονται για την υποτροπή του ασθενούς. Μονοπάτια νευρωνικής προσαρμογής των CRH1 υποδοχέων έχουν συσχετιστεί με συμπτώματα που εμφανίζονται κατά



την αποχή ενώ σε πειραματόζωα έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα CRH και CRH υποδοχέων κατά την αποτοξίνωση τους από επαναλαμβανόμενους κύκλους μέθης και αποχής από το αλκοόλ.

Ανταγωνιστές των υποδοχέων CRH έχει βρεθεί ότι μειώνουν τα αρνητικά συναισθήματα κατά την διάρκεια της αποτοξίνωσης από την αιθανόλη και επίσης ενισχύουν συμπεριφορές καταστολής του άγχους, γεγονός που συμβάλλει στην αποτελεσματική απεξάρτηση από ναρκωτικές ουσίες και τον αλκοόλ<sup>20-22</sup>. Επίσης ανταγωνιστές των υποδοχέων CRH όπως η ανταλαρμίνη έχει βρεθεί ότι μειώνει την συμπεριφορά αναζήτησης αλκοόλ σε εξαρτώμενα ποντίκια, τα οποία εμφάνιζαν αυξημένη δραστηριότητα της CRH στον αμυγδαλοειδή πυρήνα<sup>23,24</sup>. Μεικτοί ανταγωνιστές των υποδοχέων CRH1 και CRH2, όταν χορηγήθηκαν ενδοκρανιακώς στον αμυγδαλοειδή πυρήνα και στους πυρήνες της μέσης ραφής επίσης ανέστειλαν την σχετιζόμενη με στρες υποτροπή σε ναρκωτικές ουσίες όπως η κοκαΐνη, η νικοτίνη, η μεταμφεταμίνη και τα οπιοειδή<sup>25-27</sup>.

## **9.5 CRH και ανοσοποιητικό σύστημα**

Είναι ευρέως γνωστό πως το στρες, σωματικό και ψυχολογικό, σχετίζεται με την ενεργοποίηση του άξονα ΥΥΕ. Παράλληλα, φλεγμονώδεις παράγοντες όπως κυτοκίνες και χημικοί διαβιβαστές της φλεγμονής ενεργοποιούν το κεντρικό νευρικό σύστημα συνδέοντας το με το περιφερικό ανοσοποιητικό σύστημα. Η ιντερλευκίνη 1b, ιντερλευκίνη 6 ( IL 6) και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-a) μπορούν να προκαλέσουν ενεργοποίηση του άξονα ΥΥΕ είτε μόνες τους είτε δρώντας συνεργιστικά μεταξύ τους.

Οι δράσεις των κυτοκινών στο άξονα ΥΥΕ πραγματοποιούνται επίσης μέσω του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και της έκκρισης κατεχολαμινών., ενώ επιπρόσθετα μόρια όπως τα εικοσανοειδή και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων ( PAF) και η σεροτονίνη μπορεί να συμμετέχουν. Αντιθέτως, η ενεργοποίηση του άξονα ΥΥΕ έχει αναδραστική δράση στην φλεγμονώδη απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω της έκκρισης της κορτιζόλης. Τα

γλυκοκορτικοειδή μειώνουν την δράση των λευκοκυττάρων, ελαττώνουν την παραγωγή των κυτοκινών και πολλών άλλων μεσολαβητών της φλεγμονής<sup>28</sup>.

Η CRH έχει ανιχνευθεί σε περιφερικούς ιστούς κατά την διάρκεια οξείας και χρόνιας φλεγμονής. Η CRH εκκρίνεται από συμπαθητικούς νευρώνες σε σημεία φλεγμονής και έχει προ-φλεγμονώδη δράσεις όπως η αποκοκκίωσης των μαστοκυττάρων. Τα μακροφάγα επίσης εκφράζουν CRH και ουροκορτίνες και παίζουν σημαντικό ρόλο στην φλεγμονώδη διαδικασία.

Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με CRH ανεπαρκείς μύες (CRH<sup>-/-</sup>), έδειξαν πως η χορήγηση καραγενίνης, ενός πολυσακχαρίτη που προκαλεί μη σηπτική φλεγμονώδη αντίδραση, είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη φλεγμονώδη απάντηση σε σύγκριση με CRH επαρκείς μύες (CRH<sup>+/+</sup>). Ακολούθως μετά από αδρεναλεκτομή, υπήρξε επταπλάσια πτώση στην φλεγμονώδη απάντηση στους CRH ανεπαρκείς μύες (CRH<sup>-/-</sup>) ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στους CRH επαρκείς μύες (CRH<sup>+/+</sup>). Συνεπώς, γίνεται κατανοητό, πως η CRH μεταξύ του νευροανοσοποιητικού και ενδοκρινικού συστήματος και οι δράσεις της μπορεί να είναι τόσο ενισχυτικές όσο και ανασταλτικές, τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα όσο και στους περιφερικούς ιστούς<sup>29</sup>.

## **9.6 CRH και καρδιαγγειακό σύστημα**

Οι ουροκορτίνες και η CRH καθώς και οι υποδοχείς τους έχουν βρεθεί σε διάφορες δομές του καρδιαγγειακού συστήματος όπου ασκούν σημαντική δράση. Μελέτες έχουν δείξει πως τα πεπτίδια της CRH εμφανίζουν αγγειοδιασταλτικές και ινότροπες ιδιότητες, αυξάνουν την καρδιακή λειτουργία και έχουν καρδιοπροστατευτική δράση σε υγιείς ανθρώπους αλλά και σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα όπως, καρδιακή ανεπάρκεια, υπέρταση και ισχαιμική νόσο.

Η CRH και τα ανάλογα πεπτιδία οι ουροκορτίνες έχει βρεθεί ότι προκαλούν διαστολή των στεφανιαίων αγγείων στον καρδιακό μυ ποντικών και υπερτροφία των καρδιακών μυοκυττάρων. Η χορήγηση, ουροκορτινών σε ποντίκια αυξάνει τον καρδιακό παλμό μέσω κυρίως υποδοχέων CRH-2. Επίσης μετά την χορήγηση εσμολόλης ( βήτα- ανταγωνιστή), δεν παρατηρήθηκε αναστολή της ινοτρόπου δράσης των ουροκορτινών, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η δράση των πεπτιδίων αυτών δεν εξαρτάται από τους βήτα αδρενεργικούς υποδοχείς. Επίσης, πειράματα σε πρόβατα, έδειξαν πως η χορήγηση ουροκορτινών είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του καρδιακού όγκου, την μείωση των περιφερικών αντιστάσεων και την μείωση της πίεσης της αριστερής κοιλίας.

Οι ουροκορτίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργία των αγγειακών λείων μυών μέσω πολλαπλών προτεινόμενων μηχανισμών που αφορούν το αγγειακό ενδοθήλιο αλλά και άλλες περιοχές δράσεις. Ενδεικτικά, ένας μηχανισμός που έχει περιγραφεί είναι η ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH-2 που προκαλεί την αύξηση του κυκλικού AMP και την φωσφορυλίωση μέσω  $Ca^{2+}$  εξοκυττάρων κινασών που με την σειρά τους οδηγούν στην αύξηση της παραγωγής του νιτρικού οξέως (NO) και την χαλάρωση του αγγειακού μυός. Άλλες μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει πως η αγγειοδιαστολή προκαλείται μέσω ενεργοποίησης καναλιών καλίου από την δράση πεπτιδίων αναλόγων της CRH σε υποδοχείς CRH-2.

Μελέτες έχουν δείξει πως οι ουροκορτίνες δρουν και στο σύστημα ρενίνης – αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνη. Ενδοφλέβια χορήγηση ουροκορτίνης σε υγιή ποντίκια προκαλεί μείωση των επιπέδων της αγγειοτενσίνης (ACE) ενώ η θεραπεία με ουροκορτίνη αυξάνει τα επίπεδα της ACE. Επίσης, χρόνια χορήγηση της ουροκορτίνης σε υπερτασικά ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα την μειωμένη έκκριση της ACE και την αύξηση του NO , προκαλώντας την μείωση της μέσης αρτηριακής πίεσης.

Επιπρόσθετα , χορήγηση ουροκορτίνης σε πρόβατα με καρδιακή ανεπάρκεια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση αγγειοσπαστικών ουσιών όπως η αγγειοτενσίνη, η νορεπινεφρίνη, η επινεφρίνη, η ρενίνη και η ενδοθηλίνη-1, καθώς και μείωση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου (BNP). Η ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH-2 σε καρδιακά μυοκύτταρα εκτεινόμενα σε κατάσταση

ισχαιμίας και επαναιμάτωσης ενεργοποιεί ενδοκυττάριας κινάσες που με την σειρά τους προάγουν την προστασία των καρδιακών κυττάρων επηρεάζοντας την δράση παραγόντων μετάφρασης και μεταγραφής σε γονιδιακό επίπεδο<sup>30</sup>.

Αρκετές μελέτες πάνω στην επίδραση των ουροκορτινών στο καρδιαγγειακό σύστημα έχουν πραγματοποιηθεί και στους ανθρώπους<sup>31</sup>. Ο Ng και οι συνεργάτες του, έδειξαν σε μια ομάδα ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια πως παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ουροκορτίνης 2 σε σύγκριση με αντίστοιχης ηλικίας υγιή άτομα<sup>32</sup>. Ο Toral και οι συνεργάτες του<sup>33</sup> παρατήρησαν επίσης πως ασθενείς με διαστολική και συστολική καρδιακή δυσλειτουργία παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα ουροκορτίνης 2. Επίσης, ο Yildirim και η ομάδα του, μελέτησαν τα επίπεδα ουροκορτίνης 1 σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια και συμπέραναν πως σχετίζονται με την πρόοδο της καρδιακής ανεπάρκειας και μπορούν πιθανόν να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτης συστολικής καρδιακής λειτουργίας<sup>34</sup>.

Συμπερασματικά, τα πεπτίδια που ανήκουν στην οικογένεια της CRH καθώς και οι υποδοχείς CRH-1 και CRH-2, βρίσκονται σε πολλαπλές περιοχές του καρδιαγγειακού συστήματος και έχουν αιμοδυναμικές, νευροορμονικές και καρδιοπροστατευτικές δράσεις που έχουν παρατηρηθεί τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους. Παράλληλα, μελέτες παρέχουν και κάποια στοιχεία που αποδεικνύουν την αντιθρομβωτική και προ-φλεγμονώδη δράση των πεπτιδίων αυτών. Οι δράσεις αυτές αποτελούν βάση για την εύρεση θεραπειών για τις καρδιαγγειακές ασθένειες, που ωστόσο απαιτούν διεύρυνση της έρευνας στον τομέα αυτό.

## 9.7 CRH και γαστρεντερικό σύστημα

Η CRH αποτελεί ένα σημαντικό διαβιβαστή του στρες που συνδέει το κεντρικό νευρικό σύστημα και το γαστρεντερικό σύστημα και συγκεκριμένα το λεπτό και παχύ έντερο. Το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου (ΣΕΕ) θεωρείται μια διαταραχή που προκαλείται από την υπερδιέγερση του άξονα εγκεφάλου και εντέρου. Το ΣΕΕ χαρακτηρίζεται από χρόνια κοιλιακό άλγος και μη φυσιολογική κινητικότητα του εντέρου, και αποτελεί μια από τις πιο συχνές νόσους στις αναπτυγμένες χώρες, επηρεάζοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών. Οι ασθενείς με ΣΕΕ εμφανίζουν υψηλότερη συχνότητα ιστορικού σωματικής και ψυχικής κακοποίησης ενώ προϋπάρχουσες τραυματικές εμπειρίες μπορούν να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση νευροεντερικών μονοπατιών σε άτομα που εμφανίζουν προδιάθεση για το ΣΕΕ.

Μελέτες έχουν δείξει πως η περιφερική χορήγηση της CRH, επιδεινώνει την σπλαχνική αισθητική και κινητική δράση του εντέρου και αυξάνει την απάντηση στην ACTH. Χαρακτηριστικά, η χορήγηση συνθετικού ανταγωνιστή του υποδοχέα της CRH σε ασθενείς με ΣΕΕ βρέθηκε ότι μειώνει σημαντικά την κινητικότητα του εντέρου μετά από διέγερση του ορθού σε σύγκριση με υγιείς controls, όπως επίσης το βαθμό του κοιλιακού άλγους και το συνοδευόμενο αίσθημα άγχους, χωρίς να καταστέλλει τα επίπεδα της ACTH και της κορτιζόλης του ορού. Έρευνες έχουν επίσης εντοπίσει CRH και ουροκορτίνη καθώς και mRNA των CRH-1 and CRH-2 υποδοχέων στο επιθήλιο του εντέρου<sup>35</sup>.

Η χορήγηση CRH έχει βρεθεί ότι προκαλεί υπερδιέγερση των μυεντερικών και υποεπιθηλιακών νευρώνων, επηρεάζει την εκκριτική δράση και την κινητικότητα του εντέρου και αυξάνει την διαπερατικότητα του επιθηλίου. Έχουν διαπιστωθεί όμως διαφορές μεταξύ της ενεργοποίησης των CRH-1 and CRH-2 υποδοχέων. Χαρακτηριστικά, η ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH-1 προκαλεί μια προ-φλεγμονώδη απάντηση και σχετίζεται με την αλγαισθησία ενώ η ενεργοποίηση των υποδοχέων CRH-2 θέτει σε δράση αντί-φλεγμονώδη μονοπάτια και μειώνει την αίσθηση του άλγους. Συνεπώς η CRH σχετίζεται με την παθοφυσιολογία του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου, μέσω της συσχέτισής του με το στρες και την φλεγμονή του εντερικού επιθηλίου.

Μια ενδιαφέρουσα επίσης μελέτη από τον Liu και τους συνεργάτες του που δημοσιεύτηκε το 2011 εξέτασε την επίδραση της CRH στην εμφάνιση γαστρεντερικών διαταραχών και κυρίως έλκους στομάχου που ακολουθεί συχνά μετά ένα ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια που είχαν υποστεί ισχαιμικό εγκεφαλικό και υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ανταγωνιστή του CRH υποδοχέα. Η χορήγηση ανταγωνιστή του CRH υποδοχέα είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της διαπερατότητας του γαστρικού επιθηλίου και των γαστρεντερικών επιπλοκών της ισχαιμίας του εγκεφάλου. Συνεπώς, η περιφερική δράση της CRH περιλαμβάνει την ενεργοποίηση τοπικών μαστοκυττάρων και νευρικών απολήξεων με αποτέλεσμα την κατακράτηση του γαστρεντερικού περιεχομένου, την μείωση της κινητικότητας του στομάχου και του εντέρου, την μετατόπιση βακτηρίων και την υπολειτουργία του γαστρεντερικού φραγμού<sup>36</sup>.

## **9.8 CRH και αναπαραγωγικό σύστημα**

Η CRH έχει εντοπιστεί στο αναπαραγωγικό σύστημα των θήλεων και αρρένων οργανισμών όπου συμμετέχει σε φλεγμονώδεις διεργασίες με την μορφή αυτοκρινούς και παρακρινούς διαβιβαστή.<sup>37</sup> Η CRH και η CRH προκλυόμενη προοπιομελανοκορτίνη αναστέλλουν την έκκριση της GnRH, της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών. Επίσης, μέσω της ενεργοποίησης του άξονα ΥΥΕ και της έκκρισης των γλυκοκορτικοειδών, καταστέλλουν τον γυναικείο άξονα των γονάδων στο επίπεδο του υποθαλάμου, της υπόφυσης και των επινεφριδίων.<sup>38</sup> Χαρακτηριστικά, τα γλυκοκορτικοειδή, μειώνουν την μέγιστη έκκριση της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH) ως απάντηση στην χορήγηση GnRH και επίσης αναστέλλουν την ανάπτυξη της μήτρας μέσω της δράσης της οιστραδιόλης. Οι παραπάνω δράσεις της CRH μέσω του άξονα ΥΥΕ είναι υπεύθυνες για την αμηνόρροια που σχετίζεται με το στρες, το άγχος, την κατάθλιψη, την ανορεξία και το υπογναθισμό στο σύνδρομο Cushing. Στον άντρα, τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την

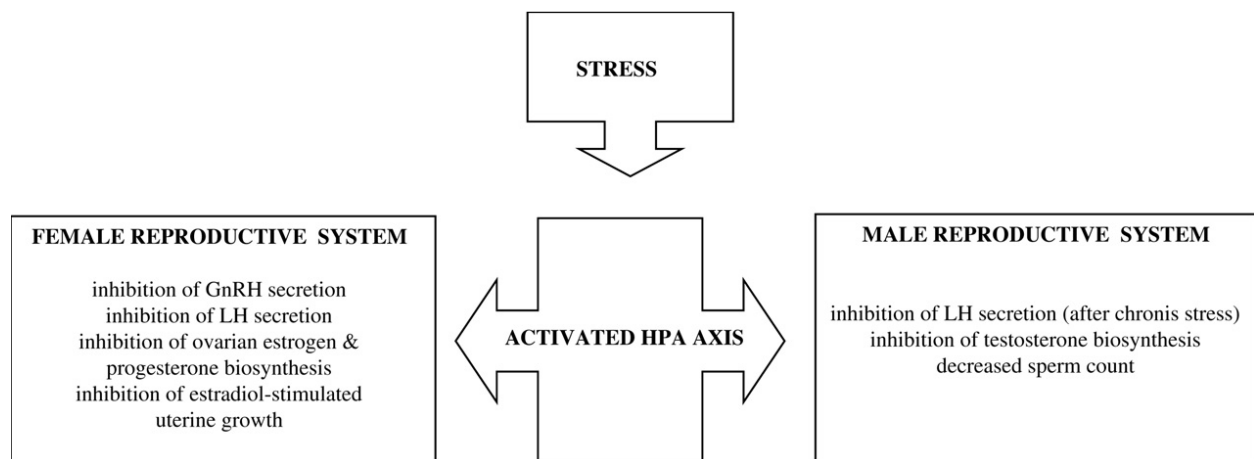
παραγωγή της τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig ενώ το χρόνιο στρες μειώνει την έκκριση της LH, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της libido και την στειρότητα.

Η CRH έχει εντοπιστεί στις ωοθήκες και συγκεκριμένα στα κύτταρα της θήκης που περιβάλλουν το ωοθυλάκιο, στα ωχρινοτρόπα κύτταρα του στρώματος και το κυτταρόπλασμα του ωαρίου.<sup>39</sup> Μελέτες έχουν δείξει πως η CRH ασκεί αρνητική δράση στην στεροειδογένεση στις ωοθήκες και πιθανόν ευθύνεται για την πρόωρη ανεπάρκεια των ωοθηκών που παρατηρείται σε γυναίκες με ιστορικό στρεσογόνων εμπειριών<sup>40</sup>. Στο σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα CRH στις ωοθήκες που πιθανόν σχετίζεται με την εμφάνιση ανωοθυλακιορρηξίας. Επιπλέον, η συγκέντρωση της CRH είναι υψηλότερη στις προεμμηνοπαυσιακές από τις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες γεγονός που αποδεικνύει ότι η CRH των ωοθηκών σχετίζεται με την φυσιολογική δράση των ωοθηκών κατά την αναπαραγωγική ηλικία<sup>41</sup>.

Επιπρόσθετα, η CRH παίζει σημαντικό ρόλο στην απόπτωση του ενδομητρικού επιθηλίου κατά την ωχρινική φάση του έμμηνου κύκλου μέσω της ενεργοποίησης ιντερλευκινών IL-1 και IL-6<sup>42,43</sup> αλλά και μεταβάλλοντας την δράση της προγεστερόνης, που αποτελεί τον βασικό παράγοντα απόπτωσης του επιθηλίου του ενδομήτριου. Στην εγκυμοσύνη, η CRH παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση του εμβρύου ενώ παράγεται από τον πλακούντα σε σημαντικές ποσότητες που αυξάνονται κατά την διάρκεια της κύησης<sup>44</sup>. Η πλακουντιακή CRH φαίνεται ότι επηρεάζει τις συσπάσεις του ενδομήτριου κατά την διάρκεια του τοκετού και βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα σε περιπτώσεις πρόωρου τοκετού<sup>45</sup>.

Η προεκλαμψία καθώς και η ενδομήτρια αναστολή της ανάπτυξης του εμβρύου έχουν επίσης συσχετιστεί με την CRH που φαίνεται να επηρεάζει τις μεταβολές των αγγείων του πλακούντα. Μελέτες έχουν δείξει υψηλά επίπεδα CRH σε γυναίκες που πάσχουν από προεκλαμψία και η εγκυμοσύνη τους έχει περιπλακεί από διαταραχή της ανάπτυξης του εμβρύου. Παράλληλα, δύναται και το έμβρυο, που βρίσκεται κάτω από αντίξοες συνθήκες κατά την διάρκεια μια εγκυμοσύνης να ανταποκρίνεται με υψηλά επίπεδα κορτιζόλης και να προκαλεί την αύξηση της CRH από τον πλακούντα.

Το επόμενο βήμα στην διεύρυνση των γνώσεων μας πάνω στην επίδραση της CRH στο αναπαραγωγικό σύστημα είναι η χρησιμοποίηση ανταγωνιστών των υποδοχέων της CRH για την θεραπεία της υπογονιμότητας και διαταραχών της κύησης όπως η προεκλαμψία και η ενδομήτρια αναστολή της ανάπτυξης του εμβρύου.



Σχήμα 4: Στρες και αναπαραγωγικό σύστημα ( S.N. Kalantaridou et al. / Journal of Reproductive Immunology 85 (2010) 33–39)



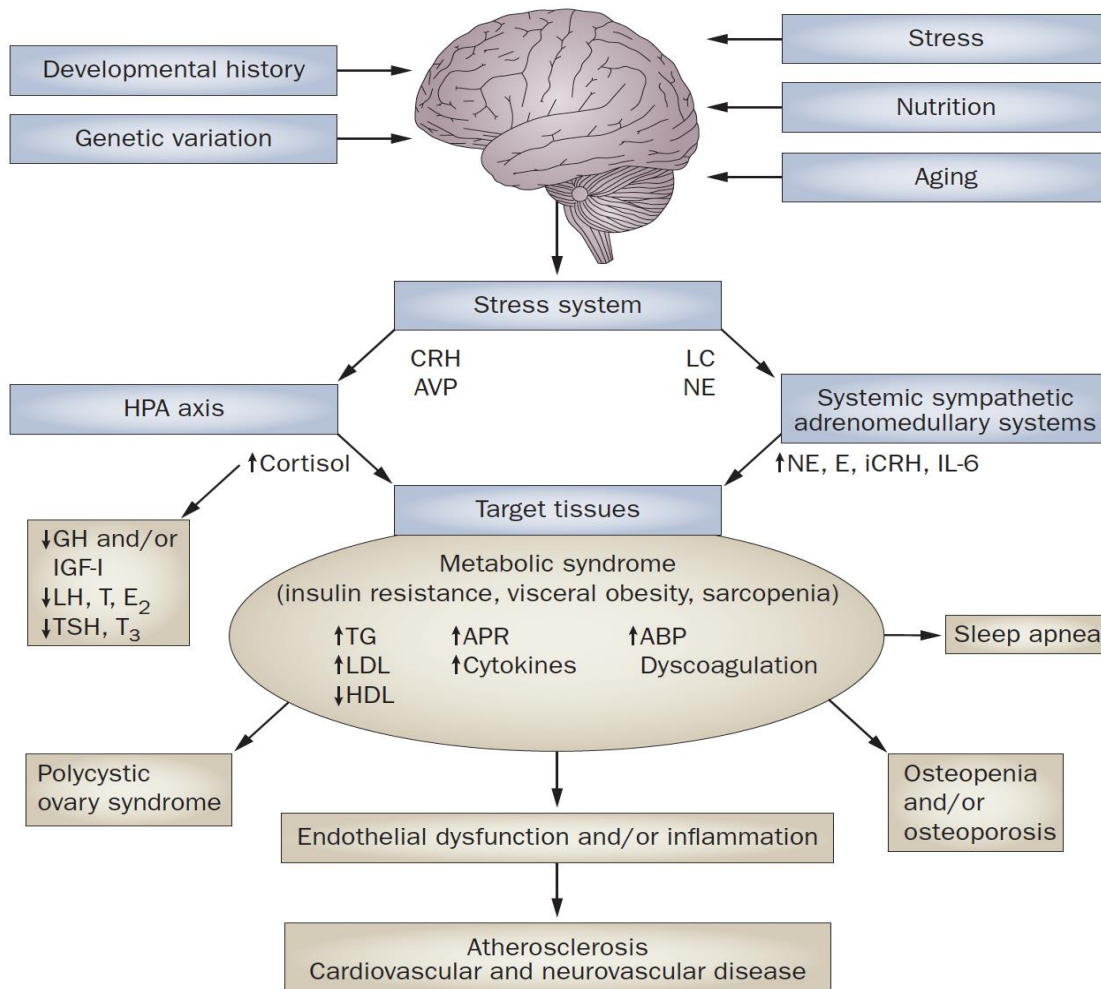
## 9.9 CRH και δερματολογικές εκδηλώσεις

Το δέρμα παράγει CRH και επίσης διαθέτει υποδοχείς της CRH, με τους CRH-1 υποδοχείς να βρίσκονται κυρίως στην επιδερμίδα και δερμίδα ενώ οι CRH-2 υποδοχείς εντοπίζονται κυρίως στην δερμίδα. Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον CRH-1 υποδοχέα παράγει πολλαπλά ισόμορφα μέσω μιας διαδικασίας που διεξάγεται με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας (UVR), του κυκλικού αδενοσίνου μονοφωσφορικού οξέως ( cAMP ) και του phorbol 12-myristate 13-acetate. Οι φαινοτυπικές επιδράσεις της CRH στο ανθρώπινο δέρμα, πραγματοποιούνται κυρίως μέσω των CRH-1 υποδοχέων με την αύξηση στην συγκέντρωση του cAMP, της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) και την ενεργοποίηση μονοπατιών της πρωτεϊνικής κινάσης A και C<sup>46</sup>. Συνεπώς, το δέρμα διαθέτει ένα 'τοπικό' σύστημα ανταπόκρισης στο στρες, του οποίου η δραστηριότητα εξαρτάται από την CRH, την προοπιομελανοκορτίνη και τα ανάλογά τους πεπτίδια.

Όπως γνωρίζουμε, οι διαταραχές του άξονα ΥΥΕ παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση συστηματικών φλεγμονωδών παθήσεων οι οποίες περιλαμβάνουν και δερματολογικές παθήσεις που επηρεάζονται από την εμφάνιση στρες. Τέτοιες παθήσεις περιλαμβάνουν την ψωρίαση, την ακμή, το έκζεμα και την γυροειδής αλωπεκία.

Πράγματι, η CRH και οι υποδοχείς της συμμετέχουν στις φλεγμονώδεις διεργασίες των παραπάνω δερματολογικών παθήσεων. Συγκεκριμένα, η CRH ασκεί ανοσοτροποποιητική δράση πάνω σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, ενεργοποιεί τα μαστοκύτταρα, αυξάνει την διαπερατότητα των αγγείων και ενεργοποιούν την παραγωγή IL-1, IL-6 από τα μονοκύτταρα<sup>47</sup>.

Χαρακτηριστικά, ο Κοπο<sup>48</sup> και οι συνεργάτες του έδειξαν αυξημένη έκφραση της CRH και CRH υποδοχέων σε ασθενείς με έκζεμα και ψωρίαση σε σύγκριση με υγιή controls. Η CRH συμμετέχει επίσης σε αρχικά στάδια εμφάνισης της ακμής καθώς έχει βρεθεί ότι εκφράζεται σε σημηματογόνους αδένες και ενεργοποιεί την σύνθεση λιπιδίων, γεγονός που υποδηλώνει πως η CRH αποτελεί μια αυτοκρινή ορμόνη με ομοιοστατική δράση αναφορικά με την σύνθεση λιπιδίων του δέρματος, παίζοντας σημαντικό ρόλο στην δημιουργία ακμής και σημηματορροϊκής δερματίτιδας.



Σχήμα 5. Επίδραση του στρες στην ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου ( Από ‘Stress and disorders of the stress system’ G.P Chrousos, Nat Rev Endocrinol 2009)

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 10. Σχεδιασμός μελέτης

Το ερευνητικό μας έργο σχεδιάστηκε πάνω σε ένα πρότυπο παρατηρητικής μελέτης ασθενών-μαρτύρων (case –control). Η μελέτη case –control αποτελεί μια αναδρομική μελέτη που εξετάζει ασθενείς που έχουν το ζητούμενο αποτέλεσμα ( cases) και ανθρώπους που δεν έχουν την ασθένεια ή το ζητούμενο αποτέλεσμα (controls). Κατόπιν, αναδρομικά συγκρίνει την συχνότητα εμφάνισης ενός προδιαθεσικού παράγοντα σε κάθε ομάδα και καθορίζει την σχέση μεταξύ του προδιαθεσικού παράγοντα ( risk factor) και την ασθένειας.

Οι μελέτες case –control αποτελούν μελέτες παρατήρησης γιατί δεν εμπεριέχουν καμία παρέμβαση ούτε προσπάθεια να μεταβάλλουν την πορεία της νόσου. Ο στόχος είναι αναδρομικά να καθορίσουν την έκθεση σε ένα προδιαθεσικό παράγοντα στις δυο ομάδες, την ομάδα ασθενών και την ομάδα μαρτύρων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μέτρηση του odds ratio.

Η επιλογή της μελέτης case –control στηρίχθηκε στο γεγονός ότι η ΣΥΕ είναι μια σπάνια ασθένεια καθώς επίσης και στο γεγονός ότι μια τέτοια μελέτη επιτρέπει την ταυτόχρονη αξιολόγηση πολλαπλών παραγόντων κινδύνου και απαιτεί λιγότερο χρόνο από μια προοπτική μελέτη. Δεν θα ήταν εφικτό να πραγματοποιήσουμε μια μελέτη cohort καθώς θα απαιτούσε να υποβάλλουμε ένα τυχαίο αριθμό γονέων με παιδιά με ενδοκρινικές παθήσεις σε CRH τεστ και κατόπιν να εξετάσουμε ποιοι γονείς ήταν φορείς της ΣΥΕ. Από τη στιγμή που η ΣΥΕ είναι μια σπάνια ασθένεια σε σχέση με άλλες ενδοκρινικές παθήσεις όπως ο σακχαρώδης διαβήτης ή ο υποθυρεοειδισμός, το δείγμα φορέων με ΣΥΕ θα ήταν ελάχιστο.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι μελέτες περίπτωσης- ελέγχου δεν αποδεικνύουν την αιτιολογία αλλά μπορούν μόνο να προτείνουν σχέσεις μεταξύ των μεταβλητών. Επειδή αυτός ο τύπος μελέτης είναι αναδρομικός, δεν υπάρχει τρόπος να ελεγχθεί το συστηματικό σφάλμα στη

μελέτη από τη διαφορική αναφορά μεταξύ των δύο ομάδων, ούτε να ταυτισθούν οι δύο ομάδες στον βαθμό που χρειάζεται ώστε να αποκλειστούν πιθανοί παράγοντες σύγχυσης και να αποδειχθεί η σχέση αιτίας και αποτελέσματος.

Επιπλέον ένα πρωτεύον σφάλμα που εμφανίζουν οι μελέτες περίπτωσης- ελέγχου , είναι το σφάλμα ανάκλησης μνήμης , εξαιτίας της αναδρομικής τους φύσης, ειδικά όταν στην μελέτη συμπεριλαμβάνονται οι πληροφορίες λαμβάνονται μέσα από ερωτηματολόγια. Σημαντική επίσης είναι η σωστή καταχώρηση των συμμετεχόντων σε ομάδα ελέγχου η ομάδα περίπτωσης, καθώς η έλλειψη σωστών πληροφοριών μπορεί να οδηγήσει στην λανθασμένη καταχώρηση των ατόμων ελέγχου στην ομάδα ατόμων των cases.

Η μελέτη μας εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Νοσοκομείου Παιδών «Αγία Σοφία» καθώς και από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών.

## **11. Πηγή ομάδας περίπτωσης**

Η ομάδα των ατόμων περίπτωσης στην μελέτη μας, δηλαδή γονέων με παιδιά με ΣΥΕ, πραγματοποιήθηκε μέσα από το ιατρείο Συγγενής Υπερπλασίας των Επινεφριδίων στο Νοσοκομείο Παιδών ‘Αγία Σοφία’. Η λειτουργία του ιατρείου ξεκίνησε παράλληλα με την έναρξη της μελέτης μας και κάλυπτε μια μέρα της εβδομάδας, τις πρωινές ώρες με περίπου τέσσερα ραντεβού την ημέρα. Υπεύθυνος του ιατρείου της ΣΥΕ , ήταν η καθηγήτρια κ. Ευαγγελία Χαρμανδάρη ενώ συμμετείχε και η ομάδα της που απαρτιζόνταν από ειδικευμένους παιδιατρικής, εξειδικευμένους παιδιατρικής-ενδοκρινολογίας, διδακτορικούς φοιτητές και φοιτητές ιατρικής.

Επίσης , χειρόγραφοι φάκελοι ασθενών με ΣΥΕ που φυλάσσονται στα γραφεία του Χωρεμείου ερευνητικού κέντρου και των εξωτερικών ιατρείων του νοσοκομείου , μελετήθηκαν και καταγράφηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας των γονείς ασθενών της ΣΥΕ. Παράλληλα, επικοινωνήσαμε με συνάδελφους παιδιάτρους-ενδοκρινολόγους του νοσοκομείου Παιδών ‘Αγία

Σοφία' για την παροχή πληροφοριών ασθενών τους με ΣΥΕ καθώς επίσης και με συναδέλφους του νοσοκομείου 'Αγλαΐα Κυριακού'.

## **12. Πηγή ομάδας ελέγχου**

Η ομάδα ελέγχου περιλάμβανε γονείς ασθενών με χρόνια ενδοκρινολογική νόσο, όπως ο υποθυρεοειδισμός και το σύνδρομο Turner. Η αναζήτηση των ατόμων της ομάδας ελέγχου πραγματοποιήθηκε επίσης μέσα από χειρόγραφους φακέλους κατανεμημένους κατά ασθένεια στα γραφεία του Χωρεμείου ερευνητικού κέντρου και των εξωτερικών ιατρείων του νοσοκομείου Παίδων 'Αγία Σοφία'. Η καθηγήτρια κ. Ευαγγελία Χαρμανδάρη επίσης είχε αναλάβει και τα τακτικά ιατρεία γενικής ενδοκρινολογίας με αποτέλεσμα να μπορέσουμε να αναζητήσουμε συμμετέχοντες στην μελέτη μας μέσα από ασθενείς των ιατρείων αυτών.

## **13. Επιλογή ομάδας περίπτωσης**

Η ομάδα περίπτωσης περιλάμβανε γονείς παιδιών με ανεπάρκεια της 21-υδροξυλάσης, που παρακολουθούνταν στη μονάδα Ενδοκρινολογίας της Α' Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία» καθώς και στο Παιδιατρικό Νοσοκομείο 'Αγλαΐα Κυριακού'.

Τα κριτήρια συμμετοχής στην μελέτη για τους cases συμπεριλάμβαναν επιβεβαιωμένη με μοριακό έλεγχο κατάσταση ετεροζυγωτίας, ηλικία από 18 ετών και άνω και βιολογική μητρότητα/πατρότητα.

Κανένα από τα άτομα της μελέτης δεν είχε οικογενειακό ιστορικό ψυχιατρικών νοσημάτων ή ιστορικό ηπατικής ή νεφρικής νόσου και κανένας δεν λάμβανε ψυχοτρόπα φάρμακα, ή φάρμακα που επηρεάζουν τη δραστηριότητα του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων ή τις συγκεντρώσεις της δεσμευτικής της κορτιζόλης σφαιρίνης ή επάγουν τα ηπατικά ένζυμα.

#### **14. Επιλογή ομάδας ελέγχου**

Η ομάδα ελέγχου περιλάμβανε γονείς παιδιών με χρόνια ενδοκρινολογική πάθηση όπως υποθυρεοειδισμό και σύνδρομο Turner που παρακολουθούνταν στη μονάδα Ενδοκρινολογίας της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Νοσοκομείο Παιδών «Αγία Σοφία». Η επιλογή των γονέων με παιδιά με χρόνια ενδοκρινολογική νόσο, έγινε για να μειώσουμε το σφάλμα επιλογής που θα προέκυπτε αν επιλέγαμε γονείς με υγιή παιδιά, που δεν βιώνουν την ψυχολογική επιβάρυνση και το στρες της φροντίδας ενός παιδιού με ιατρικές ανάγκες. Οι γονείς επίσης παιδιών με ενδοκρινολογικά ή άλλα χρόνια νοσήματα, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, οι νευρομυικές παθήσεις, οι μεταβολικές διαταραχές αποτελούν παθήσεις με μεγαλύτερη θνητότητα και θνησιμότητα, που επίσης θα μπορούσαν να εισάγουν σφάλμα επιλογής, καθώς οι οικογένειες αυτές υπόκεινται σε έντονες ψυχολογικές επιβαρύνσεις.

Τα κριτήρια συμμετοχής στην μελέτη για τους controls συμπεριλάμβαναν ηλικία από 18 ετών και άνω και βιολογική μητρότητα/πατρότητα. Τα κριτήρια αποχής από την μελέτη συμπεριλάμβαναν ιατρικό ιστορικό ψυχιατρικών νοσημάτων ή ιστορικό ηπατικής ή νεφρικής νόσου, λήψη ψυχοτρόπων φαρμάκων, ορμονών και κορτιζόνης.

#### **15. Συλλογή πληθυσμού μελέτης**

Μετά την συγκέντρωση των στοιχείων επικοινωνίας των γονέων από τους χειρόγραφους φακέλους του Νοσοκομείου Παιδών 'Αγία Σοφία', επικοινωνήσαμε τηλεφωνικά με τους γονείς για να παρέχουμε πληροφορίες για την μελέτη μας αλλά και να αναζητήσουμε με βάση τα κριτήρια επιλογής, συμμετέχοντες. Ανάλογη επικοινωνία είχαμε με τους γονείς ασθενών που επισκέπτονταν τα ιατρεία Ενδοκρινολογίας και Συγγενής Υπερπλασίας Επινεφριδίων του Νοσοκομείου Παιδών 'Αγία Σοφία'. Μετά το τέλος της ιατρικής επίσκεψης, προσεγγίσαμε τους γονείς με πληροφορίες σχετικά με την μελέτη μας και ταυτόχρονα είχαμε την ευκαιρία να κάνουμε ένα αρχικό screening με βάση τα κριτήρια αποκλεισμού και επιλογής.

Οι γονείς που εμφανίζονταν δεκτικοί να συμμετάσχουν στην ερευνά μας και πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής, ελάμβαν από εμάς ένα δεύτερο τηλεφώνημα όπου παρείχαμε περισσότερες λεπτομέρειες για την μελέτη μας και απαντούσαμε περαιτέρω ερωτήσεις. Κατόπιν, μέσω ταχυδρομείου αποστέλλαμε ένα πακέτο το οποίο περιείχε μια περίληψη της μελέτης, το έγγραφο συναίνεσης, τα ερωτηματολόγια ψυχολογικής αξιολόγησης και τα δοχεία συγκέντρωσης της σιέλου.

Μετά από πάροδο των προβλεπόμενων ημερών παράδοσης, επικοινωνούσαμε ξανά με τους γονείς για επιπρόσθετες κατευθύνσεις αλλά και τον καθορισμό της ημέρας του CRH test. Επίσης παρείχαμε τα κινητά μας τηλέφωνα για να διευκολύνουμε την άμεση επικοινωνία με τους γονείς. Σε όσους γονείς επιθυμούσαν, αποστέλλαμε ταχυδρομικώς χάρτη του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, όπου πραγματοποιήσαμε τις εργαστηριακές εξετάσεις.

## 16. Ερωτηματολόγια

Όλα τα άτομα της μελέτης υποβλήθηκαν στην συμπλήρωση των παρακάτω ερωτηματολογίων. Οι συμμετέχοντες δεν είχαν κανένα περιορισμό στον χρόνο για την συμπλήρωση των ερωτηματολογίων και μπορούσαν να ολοκληρώσουν την διαδικασία αυτή σε διάφορα χρονικά διαστήματα. Επίσης είχαμε ενθαρρύνει τους γονείς να απαντήσουν στα ερωτηματολόγια αυθόρμητα, σε κάποια ξεκούραστη και ήρεμη στιγμή της ημέρας.

**State-Anxiety Inventory (STAI).** Το STAI αποτελείται από 20 ερωτήσεις που διερευνούν την ύπαρξη άγχους που αφορά στο παρόν (STAI 1, state anxiety inventory) και επιπλέον 20 ερωτήσεις που διερευνούν την παρουσία άγχους μακροχρόνια (αγχώδης προσωπικότητα) (STAI 2, trait anxiety inventory). Οι ερωτήσεις βαθμολογούνται από το 1 έως το 4. Υψηλότερη βαθμολογία

είναι ενδεικτική μεγαλύτερου άγχους. Το ερωτηματολόγιο STAI μπορεί να συμπληρωθεί από άτομα με εκπαίδευση τουλάχιστον έκτης δημοτικού<sup>49,50</sup>.

Ο συντελεστής εσωτερικής συνέπειας για το ερωτηματολόγιο STAI έχει υπολογιστεί από 0.86 μέχρι 0.95 ενώ ο συντελεστής test-retest reliability έχει υπολογιστεί από 0.65 μέχρι 0.75 σε ένα χρονικό διάστημα 2 μηνών. Οι μελέτες έχουν δείξει ότι επίσης αποτελεί ένα ευαίσθητο δείκτη του στρες των γονέων και μπορεί να διαφοροποιείται με βάση το σύστημα στήριξης, την υγεία και χαρακτηριστικά της προσωπικότητας των ατόμων<sup>51</sup>.

**Beck Depression Inventory (BDI).** Πρόκειται για ένα ερωτηματολόγιο 21 ερωτήσεων που διερευνά την καταθλιπτική διάθεση και σκέψη<sup>52,53</sup>. Το Beck Depression Inventory (BDI) έχει χρησιμοποιηθεί σε διαφορετικές μορφές, απαιτεί περίπου δέκα λεπτά για να συμπληρωθεί και άτομα με μόρφωση πέμπτης και έκτης δημοτικού μπορούν να κατανοήσουν και να απαντήσουν τις ερωτήσεις.

Ο συντελεστής εσωτερικής συνέπειας για το ερωτηματολόγιο BDI έχει υπολογιστεί από 0.73 μέχρι 0.92 με μέση τιμή 0.86. Το BDI εμφανίζει υψηλή εσωτερική συνέπεια με άλφα συντελεστή 0.81 με 0.86 για μη- ψυχιατρικούς και ψυχιατρικούς ασθενείς αντίστοιχα<sup>54</sup>.

**Profile of Mood States (POMS).** Ερωτηματολόγιο 65 ερωτήσεων, που διερευνά έξι διαστάσεις της διάθεσης: ένταση-άγχος, κατάθλιψη, θυμό-εχθρικότητα, ενεργητικότητα-δραστηριότητα, κόπωση-απραξία και σύγχυση.<sup>55</sup> Η ένταση αποτελεί ένα φυσικό και ψυχολογικό συναίσθημα που συνήθως συνοδεύεται από την πίεση και την δυσανεξία της εύρεσης μεθόδων, μείωσης του είτε μέσω πράξεων ή μέσω συζήτησης. Το άγχος χαρακτηρίζεται από ανησυχία, φόβο και ακολουθείται συχνά από σωματικά συμπτώματα. Ο θυμός αποτελεί ένα συναίσθημα εχθρικότητας και έκφρασης δυσανεξίας. Η κόπωση αποτελεί μια ακόμη διάσταση της διάθεσης που εξετάζει το POMS. Η κόπωση μπορεί να προκύπτει από συναισθηματικό βάρος, σωματική εξάντληση, άνοια και έλλειψη ύπνου. Η κατάθλιψη και η μελαγχολία συμπεριλαμβάνονται επίσης στο ερωτηματολόγιο POMS. Η σύγχυση αναφέρεται στην διαταραχή της επίγνωσης και



χαρακτηρίζεται από έλλειψη νοητικής και συμπεριφορικής διαύγειας και απώλεια σωστής αντίληψης του χώρου, χρόνου και περιβάλλοντος<sup>56,57</sup>

Οι συμμετέχοντες μπορούν να επιλέξουν από το 0 ( καθόλου) μέχρι το 4 ( εξαιρετικά). Οι υγιείς συμμετέχοντες χρειάζονται περίπου 3 με 7 λεπτά για να το συμπληρώσουν ενώ άτομα με προβλήματα υγείας δύναται να χρειαστούν παραπάνω χρόνο. Το POMS περιλαμβάνει λέξεις που χαρακτηρίζουν συναισθήματα και πτυχές της διάθεσης. Ο συντελεστής εσωτερικής συνέπειας για το ερωτηματολόγιο POMS έχει υπολογιστεί από 0.63 μέχρι 0.96 με βάση το σύστημα Cronbach alpha.

**Temperament and Character Inventory (TCI).** Ερωτηματολόγιο 240 ερωτήσεων που διερευνά την προσωπικότητα και χαρακτήρα του ατόμου . Το ερωτηματολόγιο TCI αναπτύχθηκε από τους Cloninger, Svrakic, Bayón, και Przybeck το 1999 και αναθεωρήθηκε από τους Cloninger, Przybeck, Svrakic, και Wetzel το 1994 και αποτελεί ένα μέτρο αξιολόγησης της προσωπικότητας με βάση 4 παραμέτρους: αναζήτηση καινοτομίας , αποφυγή του επιβλαβούς, εξάρτηση από την ανταμοιβή και επιμονή και 3 διαφορετικά χαρακτηριστικά : αυτο-κατεύθυνση, συνεργασία και προσωπική υπέρβαση<sup>58,59</sup>.

Οι διακυμάνσεις μέσω factor analysis με promax rotation ποικίλουν μεταξύ 2.0 και 4.4% ενώ η συνολική διακύμανση στους 25 παράγοντες έχει υπολογιστεί σε 8.0-17.7%. Ο Cloninger και οι συνεργάτες του παρατήρησαν το 1993 σε μια μελέτη τους σημαντική συσχέτιση μεταξύ επτά διαστάσεων, η συνεργασία σχετίζονταν θετικά με την εξάρτηση από την ανταμοιβή και την αυτο-κατεύθυνση, ενώ η αυτο-κατεύθυνση σχετίζονταν αρνητικά με την αποφυγή του επιβλαβούς.

Με βάση τον Cloninger , οι ιδιοσυγκρασίες αποτελούν αυτόματες απαντήσεις σε εμπειρίες που μπορεί να είναι επίκτητες και παραμένουν σταθερές στην ζωή. Σε αντίθεση, οι χαρακτήρες αναφέρονται στην διαφορετικότητα σε στόχους και αξίες. Ο χαρακτήρας επηρεάζεται από την γνώση και την μάθηση, είναι μοναδικός σε κάθε άτομο και διαφοροποιείται με σταδιακούς ρυθμούς. Θεωρητικά, οι σχέσεις μεταξύ ιδιοσυγκρασία και χαρακτήρα είναι μη γραμμικές, αντικατοπτρίζοντας την ιεραρχική φύση των εποπτικών πνευματικών διαδικασιών που ρυθμίζουν συναισθηματικές συγκρούσεις.

Οι 4 ιδιοσυγκρασίες και οι 3 χαρακτήρες περιγράφονται περιληπτικά παρακάτω. Η αναζήτηση καινοτομίας είναι η τάση της απαντητικότητας σε νέα ερεθίσματα οδηγώντας στην αναζήτηση ανταμοιβής και αποφυγής της αυστηρής μεταχείρισης. Η αποφυγή του επιβλαβούς είναι η τάση της αναστολής αντιδράσεων σε αποτρεπτικά ερεθίσματα που οδηγεί στην αποφυγή της τιμωρίας και μη ανταμοιβής. Η εξάρτηση από την ανταμοιβή αναφέρεται στην τάση θετικής απάντησης σε ερεθίσματα που προάγουν την ανταμοιβή και διατηρούν την ορθή συμπεριφορά. Η επιμονή είναι η εγκαρτέρηση παρά την ματαίωση και την κόπωση και η αντίσταση σε ερεθίσματα που αποδυναμώνουν την συμπεριφορά. Η αυτό-κατεύθυνση αναφέρεται στην ικανότητα του ατόμου να ελέγχει, να ρυθμίζει και να προσαρμόζει την συμπεριφορά του αναλόγως των αξιών και των επιλεγμένων στόχων του. Η συνεργασία εμπεριέχει την αναγνώριση και αποδοχή της διαφορετικότητας των συνανθρώπων ενώ η προσωπική υπέρβαση αναφέρεται στην πνευματικότητα και εμπεριέχει την αναγνώριση των σημαντικών και ουσιωδών παραγόντων μιας ολοκληρωμένης προσωπικότητας<sup>60</sup>.

**Perceived Stress Questionnaire (PSQ).** Το PSQ ερωτηματολόγιο αποτελείται από 30 ερωτήσεις και αποτελεί από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα ψυχομετρικά εργαλεία για την μέτρηση της αντίληψης του στρες. Το PSQ αποτελεί ένα όργανο μέτρησης του βαθμού εκτίμησης μιας κατάστασης ως στρεσογόνου. Οι ερωτήσεις έχουν σχεδιαστεί για να αξιολογήσουν πόσο απρόβλεπτη, ανεξέλεγκτη και υπερφορτωμένη θεωρούν την ζωή τους, οι συμμετέχοντες<sup>61</sup>.

Το ερωτηματολόγιο περιλαμβάνει άμεσες και συγκεκριμένες ερωτήσεις σχετικά με σύγχρονες εμπειρίες που προκαλούν στρες αλλά και πιο γενικές ερωτήσεις που αφορούν τα συναισθήματα και τις σκέψεις κατά την διάρκεια του προηγούμενου μήνα.

Η συνέπεια test-retest για το ερωτηματολόγιο PSQ για άνω των 2 ετών είναι 0.82 ενώ η συνέπεια test-retest σε μηνιαίο επίπεδο ποικίλει με μέσο παράγοντα 1.9 μέχρι 6 μήνες και άλφα συντελεστή  $> 0.9$ . Γενικά και πιο πρόσφατα PSQ scores σχετίζονται με δείγματα στρες ( $r = 0.75$ ), Cohen's Perceived Stress Scale ( $r = 0.73$ ), κατάθλιψη ( $r = 0.56$ ), αυτο καθοριζόμενος βαθμός στρες ( $r = 0.56$ ), και στρεσογόνα γεγονότα ( $p < 0.05$ ).

Το ερωτηματολόγιο PSQ μπορεί να συμπληρωθεί σε 10 λεπτά και απαιτεί μορφωτικό επίπεδο έκτης δημοτικού με πρώτη γυμνασίου. Η Κατσαρού και οι συνεργάτες της, μελέτησαν το 2012 την επικύρωση της Ελληνικής έκδοσης του PSQ -14 ερωτήσεων. Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν εκατό γυναίκες και άντρες. Το ερωτηματολόγιο μεταφράστηκε στα Ελληνικά και μετά ξανά στα Αγγλικά. Αρχικά, οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο και στην συνέχεια πέρασαν από συνέντευξη από ένα ψυχολόγο εξειδικευμένο στην αντιμετώπιση του στρες. Η εσωτερική συνέπεια μετρήθηκε με την μέθοδο του Cronbach's alpha και η συνέπεια με την κλινική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε με τις μεθόδους Kendall's tau-b και Bland & Altman. Το αποτέλεσμα της μελέτης αυτής έδειξαν ισχυρή εσωτερική συνέπεια (Cronbach's  $\alpha = 0.84$ ) και μέτρια προς καλή αντιστοιχία μεταξύ της κλινικής εικόνας και του PSS-14 σκορ (Kendall's tau-b = 0.43,  $p < 0.01$ ).<sup>62</sup>

**Symptom Checklist-90R (SCL90-R):** Το ερωτηματολόγιο δημιουργήθηκε το 1977 από τον Leonard R. Derogatis και αναθεωρήθηκε το 2010.<sup>63,64</sup> Περιλαμβάνει 90 ερωτήσεις που εξετάζουν επικείμενα ψυχολογικά προβλήματα και συμβάλλουν στην αναγνώριση συμπτωμάτων ψυχικών νόσων. Το SCL90-R χρησιμοποιείται ευρέως από ψυχολόγους, ψυχιάτρους και ειδικούς σε ψυχικές παθήσεις ως μέσο αξιολόγησης της προόδου των ασθενών και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Το ερωτηματολόγιο εστιάζεται στους εξής άξονες: σωματοποίηση, ψυχαναγκασμός, ευαισθησία, κατάθλιψη, άγχος, εχθρικότητα, φοβία, παρανοϊκό ιδεασμό και ψυχωτισμό. Η συνολικές μετρήσεις αναφέρονται ως Global Severity Index (GSI), the Positive Symptom Distress Index (PSDI) και the Positive Symptom Total (PST).

Το ερωτηματολόγιο SCL90-R εμπεριέχει ερωτήσεις που εξετάζουν το βαθμό ενόχλησης και δυσαρέσκειας σε ενδεχόμενες καταστάσεις και συμπεριφορές που έλαβαν χώρα μια εβδομάδα από την συμπλήρωση του ερωτηματολογίου. Η κλίμακα μέτρησης είναι από το 1 έως το 5 (Likert scale) και οι απαντήσεις χαρακτηρίζονται από "καθόλου" μέχρι "εξαιρετικά".

Το SCL90-R μπορεί να συμπληρωθεί από υγιή άτομα άνω της ηλικίας των 13 ετών καθώς και από ασθενείς με ψυχιατρικά προβλήματα. Οι συμμετέχοντες χρειάζονται περίπου 12 με 15 λεπτά για

την συμπλήρωσή του και το μορφωτικό επίπεδο που απαιτείται είναι ανάλογο της έκτης δημοτικού.

Υπάρχουν πολλαπλές μελέτες που να στηρίζουν την εγκυρότητα και την αξιοπιστία του SCL90-R. Ο συντελεστής εσωτερικής συνοχής κυμαίνεται από 0.9 για την κατάθλιψη και 0.77 για τον ψυχωτισμό. Η test-retest αξιοπιστία έχει αναφερθεί από 0.8 μέχρι 0.9 για ένα μεσοδιάστημα μίας εβδομάδας<sup>65</sup>.

## **17. Ανθρωπομετρικά δεδομένα**

Οι συμμετέχοντες στην μελέτη βρίσκονταν στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών στις 7 π.μ. μετά τον καθορισμό του ραντεβού για την κλινική εξέταση, την αιμοληψία και το τεστ CRH. Το Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΒΕΑΑ) ξεκίνησε τις δραστηριότητές του το 2004, στεγαζόμενο σε κτίριο 26.000 τετραγωνικών μέτρων σε απόσταση 3 χλμ. από το κέντρο της Αθήνας. Ο πρωταρχικός στόχος του ΙΒΕΑΑ είναι να υποστηρίξει τη βασική και κλινική έρευνα, δημιουργώντας κατ' αυτόν τον τρόπο το ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη της μεταφραστικής έρευνας που συνδέει τα εργαστηριακά ευρήματα με κλινικές πρακτικές. Το ΙΒΕΑΑ είναι ένα από τα ελάχιστα Ιδρύματα στην Ευρώπη που συνδυάζει βασική και κλινική έρευνα και αποτελεί το μοναδικό ερευνητικό φορέα στην Ελλάδα με αυτές τις δυνατότητες. Στόχος του είναι η επίτευξη επιστημονικής Αριστείας. Προς τούτο είναι στελεχωμένο με ερευνητές υψηλού επιπέδου, οι οποίοι διεξάγουν πρωτοποριακή έρευνα χρησιμοποιώντας εργαστηριακή υποδομή προηγμένης τεχνολογίας σε 22 υπερσύγχρονα εργαστήρια. Το ΙΒΕΑΑ περιλαμβάνει 4 Ερευνητικά Κέντρα που εξειδικεύονται σε διαφορετικές πτυχές της Ιατροβιολογικής Έρευνας.

Στην αρχή της επίσκεψης στο ΙΒΕΑΑ κάθε συμμετέχοντος, επαναλάβαμε την λήψη του ιατρικού ιστορικού με έμφαση σε ψυχιατρικές παθήσεις και την θεραπεία με ψυχοτρόπα φάρμακα αλλά και ενδοκρινικές παθήσεις ή νοσήματα που επιδρούν στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων. Επίσης ελέγξαμε για την ύπαρξη παρούσας νόσου όπως ιογενής λοιμώξεις και

σωματικά τραύματα, που θα μπορούσαν να επηρεάζουν τον άξονα ΥΥΕ. Αξίζει να σημειωθεί πως οι συμμετέχοντες είχαν λάβει οδηγία να νηστεύσουν για 12 ώρες πριν το τεστ.

Κατόπιν, πραγματοποιήσαμε κλινική εξέταση, με ακρόαση πνευμόνων και καρδίας, εξέταση της κοιλιακής χώρας, του μυοσκελετικού, του δέρματος, των λεμφαδένων και αδρή νευρολογική εξέταση. Μετρήσαμε το βάρος των συμμετεχόντων σε αυτόματη ζυγαριά, το ύψος καθώς και την περιφέρεια μέσης και ισχίου. Με τον τρόπο αυτό υπολογίσαμε τον δείκτη μάζας σώματος (BMI) και τον λόγο περιφέρειας μέσης προς ισχίων (WHR). Το βάρος μετρήθηκε σε κιλά και το ύψος, το μήκος της περιφέρειας και των ισχίων σε εκατοστόμετρα.

Καθώς η επικοινωνία μας με τους συμμετέχοντες στην μελέτη ήταν συχνή, δεν υπήρξαν άτομα που χρειάστηκε να ακυρώσουμε την ημέρα της κλινικής εξέτασης και του CRH τεστ, μετά την προσέλευσή τους στο ΠΒΕΑΑ. Συγκεκριμένα την προηγούμενη ημέρα, επιβεβαιώναμε τα ραντεβού με τους γονείς και αναβάλλαμε ημέρες εξετάσεις σε περίπτωση, ασθένειας ή άλλων επειγόντων καταστάσεων. Δεν συναντήσαμε επίσης καθυστερήσεις με την άφιξη των γονέων καθώς είχαμε τονίσει την σημασία της πρωινής αιμοληψίας και είχαμε δώσει συγκεκριμένες κατευθύνσεις για το ΠΒΕΑΑ. Για γονείς που ταξίδευαν από την επαρχία ή μέρη της Ελλάδας εκτός Αθηνών, παρείχαμε την δυνατότητα συντονισμού με την καθορισμένη ημέρα επίσκεψης των παιδιών τους στα ενδοκρινολογικά ιατρεία του Νοσοκομείου Παίδων ‘Αγία Σοφία’ που βρίσκεται σε κοντινή απόσταση από το Ίδρυμα.

Η κλινική εξέταση και οι παραπάνω μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά διαμορφωμένους χώρους στο ΠΒΕΑΑ χρησιμοποιώντας την ίδια ζυγαριά και αναστημόμετρο. Οι χώροι αυτοί προσομοίαζαν δωμάτια νοσηλείας με δυο κρεβάτια νοσηλείας, καρέκλες και τραπέζια. Οι συμμετέχοντες στην μελέτη μπορούσαν να αναπαύονται στο δωμάτιο, να διαβάσουν αλλά και να μετακινηθούν κοντά στους εξωτερικούς χώρους του κτηρίου.

## 18. CRH τεστ

Κατά την άφιξη των συμμετεχόντων στην μελέτη στο ΠΒΕΑΑ, στις 7 π.μ. , εισήγαμε αρχικά ένα φλεβοκαθετήρα 16 ή 18 Gauge στην ραχιαία επιφάνεια του χεριού ή στον κερκιδικό βόθρο. Η εισαγωγή του φλεβοκαθετήρα πραγματοποιούνταν περίπου μια ώρα πριν την έναρξη του CRH τεστ με σκοπό να αποφύγουμε οποιαδήποτε αύξηση των επιπέδων κορτιζόλης εξαιτίας του στρες της φλεβοκέντησης και να επιτρέψουμε κάποιο χρόνο προσαρμογής. Όλοι οι συμμετέχοντες ανέχθηκαν χωρίς καμία δυσκολία την φλεβοκέντηση και δεν παρατηρήθηκαν αιματώματα, εκχυμώσεις, τραυματισμοί. Οι συμμετέχοντες δεν εμφάνισαν ζάλη, λιποθυμικά επεισόδια και δεν ανέφεραν σημαντικό πόνο ή δυσφορία.

Αξίζει να σημειωθεί πως, η ομάδα μας είχε προετοιμάσει τον χώρο μια ημέρα πριν την καθορισμένη του ραντεβού για την μελέτη και επίσης τα σωληνάρια αιμοληψίας, vacutainers, είχαν επιγραφεί με ένα κωδικό που αντιστοιχούσε σε κάθε συμμετέχοντα αλλά και είχαν αριθμηθεί με βάση την τα χρονικά διαστήματα της κάθε αιμοληψίας. Αναλόγως είχαν κωδικοποιηθεί και αριθμηθεί και τα σωληνάρια όπου μεταφέρονταν κατόπιν ο φυγοκεντριμένος ορός.

Πριν την έναρξη της χορήγησης της CRH, 5-15 λεπτά, πραγματοποιούσαμε την πρώτη αιμοληψία για τον καθορισμό βασικών επιπέδων των ACTH, κορτιζόλη, γλυκόζη , ινσουλίνη, προλακτίνη, τεστοστερόνη, οιστραδιόλη, TSH, T3, Free T4, LH, FSH, DHEAS and CBG<sup>66</sup>.

Στον χρόνο 0 που αντιστοιχούσε στις 8 πμ , χορηγούσαμε την oCRH (ovine CRH) σε συγκέντρωση 1 μg/kg με μέγιστη δόση 100 μg. Η συνθετική από βοειδή CRH ή κορτικορελίνη φυλάσσονταν σε θερμοκρασία 4<sup>0</sup> C και χορηγούνταν με την μορφή ενδοφλέβιου διαλύματος. Η παροχή της CRH έγινε από το φαρμακείο του Νοσοκομείου Παίδων «Αγία Σοφία».

Η κορτικορελίνη, είναι μια αποστειρωμένη, μη πυρετογόνος, λυοφιλοποιημένη άσπρη σκόνη που εμπεριέχει κορτικορελίνη από βοειδή σε μορφή τριφλουροακετικού άλατος. Η αλληλουχία των αμινοξέων της συνθετικής κορτικορελίνης είναι ακριβώς η ίδια με της ανθρώπινης CRH. Η νουκλεοτιδική σύνθεση είναι: Ser-Gin-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-

Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Thr-Lys-Ala-Asp-Gin-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Leu-Asp-Ile-Ala-NH<sub>2</sub>·xCF<sub>2</sub>COOH. Η εμπειρική σύνθεση είναι C<sub>205</sub>H<sub>339</sub>N<sub>59</sub>O<sub>63</sub>S με μοριακό βάρος 4670.35 Daltons.

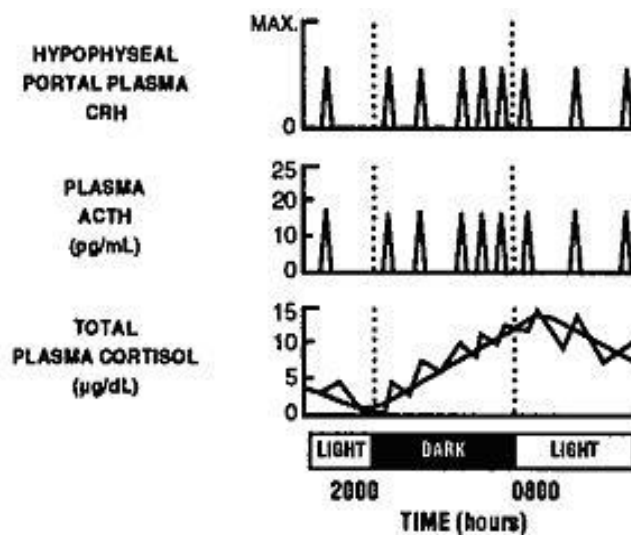
Η ενδοφλέβια μορφή της κορτικορελίνης, βρίσκονταν σε φιαλίδια που εμπεριείχαν 100 mcg oCRH, 0.88 mg ασκορβικού οξέως, 10 mg λακτόζης και 26 mg υδροχλωρικής κυστεΐνης. Η κορτικορελίνη με την μορφή άσπρης σκόνης διαλυόταν σε 2 ml φυσιολογικού ορού χλωριούχου νατρίου (0.9% sodium chloride) που εμπεριεχόταν στην συσκευασία, με απλή ανάδευση. Μετά την ανασύσταση το φάρμακο, μπορούσε να παραμείνει σε συνθήκες ψύξης 2 με 8<sup>o</sup> C μέχρι 8 ώρες. Για κάθε συμμετέχοντα χρησιμοποιήσαμε ένα ξεχωριστό φιαλίδιο και επεξεργάζονταν με αποστειρωμένες και μια χρήσης σύριγγες και βελόνες.

Σε υγιή άτομα, η ενδοφλέβια χορήγηση κορτικορελίνης οδηγεί σε μια ταχεία και διατηρούμενη αύξηση στα επίπεδα της ACTH στο πλάσμα και ανάλογη αύξηση στα επίπεδα κορτιζόλης. Παράλληλα η χορήγηση oCRH προκαλεί παραταταμένη απελευθέρωση πεπτιδίων προοπιομελανοκορτίνη β και γ – λιποτροπίνες και β- ενδορφίνων.<sup>67,68</sup> Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να καθορίσουν την δοσολογία της oCRH. Σε μια μελέτη, οι δόσεις της κορτικορελίνης που χορηγήθηκαν σε υγιή άτομα διακυμαίνονταν από 0.001 με 30 mcg/kg και παρατηρήθηκε δόσο εξαρτώμενη απόκριση της ACTH και λιγότερο της κορτιζόλης. Η ελάχιστη δόση όπου παρατηρούνταν επίδραση στην ACTH ήταν 0.03 mcg/kg και η μέγιστη δόση ήταν 3-10 mcg/kg<sup>69,70</sup>.

Τα επίπεδα της ACTH σε υγιή άτομα αυξάνονται μέσα σε 2 λεπτά από την έγχυση της κορτικορελίνης και φτάνουν το μέγιστο σε 10-15 λεπτά. Τα επίπεδα της κορτιζόλης στο αίμα αυξάνονται μέσα σε 10 λεπτά και φτάνουν το peak σε 30 με 60 λεπτά. Όσο αυξάνεται η δόση της κορτικορελίνης τα επίπεδα της ACTH και της κορτιζόλης στο πλάσμα έχουν μια πιο σταθερή αύξηση και φτάνουν σε ένα δεύτερο peak σε 2-3 ώρες μετά την ενδοφλέβια έγχυση. Μετά από έγχυση 0.3 mcg/kg κορτικορελίνης, η μέση αύξηση της ACTH στο πλάσμα παραμένει για 4 ώρες. Η επίδραση στα επίπεδα κορτιζόλης είναι παρόμοια αλλά πιο παρατεταμένη. Επειδή παρατηρούνται διαφορετικά βασικά και peak επίπεδα ACTH και κορτιζόλης στο πλάσμα ανάλογα

με την διαφορετική ώρα της ημέρας, προτείνεται το CRH τεστ να πραγματοποιείται για τους ασθενείς την ίδια ώρα της ημέρας, πρωί ή απόγευμα<sup>71-73</sup>.

Τα επίπεδα ACTH και κορτιζόλης στο πλάσμα είναι συνήθως υψηλότερα το πρωί. Υγιή άτομα εμφανίζουν επίπεδα ACTH  $25 \pm 7$  pg/mL το πρωί και  $10 \pm 3$  το απόγευμα και επίπεδα κορτιζόλης  $11 \pm 3$  mcg/dL το πρωί και  $4 \pm 2$  mcg/dL το απόγευμα. Ένα υγιές άτομο έχει περίπου 7 με 10 επεισόδια έκκρισης ACTH κάθε μέρα, τα περισσότερα από τα οποία παρατηρούνται τις πρωινές ώρες και ευθύνονται για το κύμα της κορτιζόλης. Το παρακάτω σχήμα δείχνει το καθημερινό κιρκάδιο ρυθμό έκκρισης της ACTH και κορτιζόλης σε ένα υγιές άτομο. Η ινσουλίνη, η ρενίνη, η προλακτίνη και η αυξητική ορμόνη δεν επηρεάζονται από την χορήγηση της κορτικορελίνης.



**Εικόνα 2:** Κιρκάδιος ρυθμός έκκρισης της CRH, ACTH και κορτιζόλης.



Μετά την έγχυση 1 mcg/kg κορτικορελίνης σε υγιείς άντρες , η απομάκρυνση της ανοσοαντιδραστικής κορτικορελίνης από το πλάσμα ακολουθεί εκθετική καμπύλη αποσύνθεσης. Ο χρόνος ημίσειας ζωής για την κορτικορελίνη είναι  $11.6 \pm 1.5$  λεπτά για το ταχύ συστατικό και  $73 \pm 8$  λεπτά για το βραδύ συστατικό. Ο μέσος όγκος κατανομής είναι  $6.2 \pm 0.5$  L με ρυθμό κάθαρσης  $95 \pm 11$  L/m<sup>2</sup>/ ημέρα. Η κορτικορελίνη δεν δεσμεύεται σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες του πλάσματος

## Προφυλάξεις

Η σοβαρότητα των ανεπιθύμητων ενεργειών της ένεσης της κορτικορελίνης εξαρτάται από την δόση. Δόσεις πάνω από 1 mcg/kg δεν συστήνονται καθώς μεγαλύτερες δόσεις σχετίζονται με σύντομη ταχυκαρδία, υπόταση, απώλεια της συνείδησης και ασυστολία. Τα συμπτώματα αυτά μπορεί να μειωθούν με την σταδιακή χορήγηση της κορτικορελίνης σε 30 λεπτά και όχι σε bolus ενδοφλέβια έγχυση. Σε δόση 200 mcg κορτικορελίνης , έχουν παρατηρηθεί επεισόδια μειωμένης αρτηριακής πίεσης και σχεδόν λιποθυμικά επεισόδια διάρκειας περίπου 5 λεπτών.

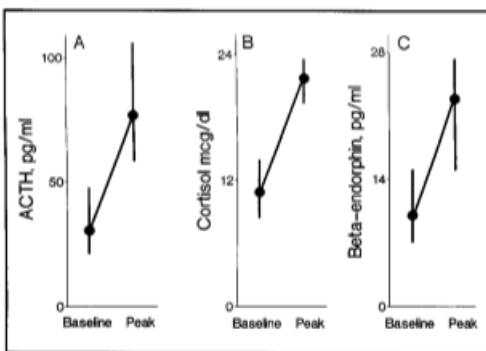
Αλλεργικές αντιδράσεις επίσης έχουν παρατηρηθεί σε άτομα που έλαβαν κορτικορελίνη, και περιλαμβάνουν ουρτικάρια, οίδημα και ερυθρότητα προσώπου, δύσπνοια , συριγμό.

Τα επίπεδα της ACTH σε απάντηση στη έγχυση της κορτικορελίνης μπορεί να αμβλυνθούν σε άτομα τα οποία λαμβάνουν θεραπεία με στεροειδή ενώ η ταυτόχρονη χορήγηση ηπαρίνης μπορεί να προκαλέσει υποτασικά επεισόδια.

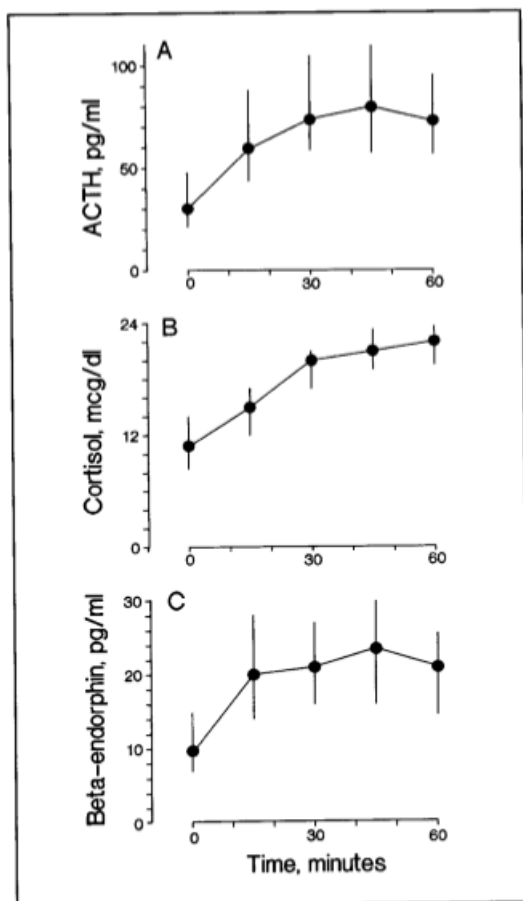
Η κορτικορελίνη δεν έχει καρκινογόνο ή μεταλλαξιογόνο δράση και δεν επηρεάζει την γονιμότητα. Δεν είναι γνωστή η δράση της κορτικορελίνη στην εγκυμοσύνη και τον θηλασμό.

Η πιο συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια που παρατηρείται σε άτομα που έλαβαν κορτικορελίνη είναι ένα αίσθημα καύσους/ έξαψης που ενίοτε συνοδεύεται από δύσπνοια, πόνο στο στήθος, ταχυκαρδία και υπόταση. Οι καρδιαγγειακές ανεπιθύμητες ενέργειες συνήθως εμφανίζονται μέσα σε 2-3 λεπτά μετά την ενδοφλέβια έγχυση και διαρκεί 30-60 λεπτά. Η ερυθρότητα προσώπου μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 4 ώρες.

Σε μια μελέτη τους ο Young <sup>74</sup> και οι συνεργάτες τους, καθόρισαν την απάντηση του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων στην ενδοφλέβια έγχυση της κορτικοτροπίνης 1 μg/kg σε 50 άτομα. Σε 44% των ατόμων παρατηρήθηκε μια σύντομη έξαψη προσώπου και καμία άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια. Τα επίπεδα της κορτικοτροπίνης αυξήθηκαν από μια μέση βασική τιμή των 30.2 pg/ml σε μια μέση τιμή αιχμής των 77.8 pg/ml μετά την χορήγηση της oCRH. Η απάντηση αιχμής παρατηρήθηκε σε 30-45 λεπτά. Τα επίπεδα της κορτιζόλης αυξήθηκαν από μια μέση βασική τιμή των 10.8 micrograms/dl σε μια μέση τιμή αιχμής των 22 micrograms/dl μετά την χορήγηση της oCRH. Η απάντηση αιχμής παρατηρήθηκε σε 15-30 λεπτά. Η απάντηση στην χορήγηση της oCRH δεν επηρεάστηκε από το φύλο, την ηλικία και τον δείκτη μάζας σώματος.



**Σχήμα 3:** Από Young et al, 1990. Επίπεδα ACTH, κορτιζόλης και β-ενδορφίνης, βασικά και αιχμής μετά την χορήγηση 1 μg/kg κορτικοτροπίνης.



**Σχήμα 4:** Από Young et al, 1990. Απάντηση του άξονα ΥΥΕ σε 50 άτομα μετά την χορήγηση 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  κορτικοτροπίνης. Επίπεδα ACTH, κορτιζόλης και  $\beta$ -ενδορφίνης.

Ένας από τους συμμετέχοντες στην μελέτη μας εμφάνισε το αίσθημα καύσους και ‘flushing’ κατά την χορήγηση της κορτικορελίνης που διήρκησε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα περίπου 5 λεπτών και δεν συνοδεύτηκε από δύσπνοια, στηθάγχη, οίδημα ή εμφάνιση σημείων και συμπτωμάτων αλλεργικής αντίδρασης. Τα ζωτικά του σημεία, σφύξεις, αναπνοές καθώς και η αρτηριακή του πίεση μετρήθηκαν και ήταν φυσιολογικά. Συνεπώς με την συναίνεση του το CRH τεστ συνεχίστηκε χωρίς καμία ακόλουθη ανεπιθύμητη ενέργεια. Η χορήγηση της κορτικορελίνης

πραγματοποιούνται σε χρόνο 2-3 λεπτών και όχι 30 λεπτών όπως συνίσταται για την αποφυγή ανεπιθύμητων ενεργειών, λόγω έλλειψης χρόνου. Παρολ'αυτά , εκτός από το προαναφερθείσων επεισόδιο δεν παρατηρήθηκαν επιπρόσθετες ανεπιθύμητες ενέργειες και όλοι οι συμμετέχοντες εμφάνισαν άριστη ανοχή στο τεστ.

Μετά την χορήγηση της oCRH στον χρόνο μηδέν, ακολούθησαν αιμοληψίες στους χρόνους 15 , 30, 45, 60, 90 και 120 λεπτά, από τον φλεβοκαθετήρα που είχε ήδη τοποθετηθεί. Η συλλογή του αίματος γινόταν σε ethylenediaminetetraacetic (EDTA) 4-mL σωληνάρια με περίπου 3ml αίματος για την ACTH και 3 ml σε ηπαρινισμένα σωληνάρια για την κορτιζόλη για την κορτιζόλη, 17-OHP και ανδροστενεδιόνη. Χρονόμετρο για την ακριβή μέτρηση της ώρας επίσης βρίσκονταν στην διάθεσή μας.

Ο φλεβοκαθετήρας αφαιρούνταν στο τέλος της μελέτης μετά από έγχυση 3 ml φυσιολογικού ορού για έκπλυση. Δεν παρατηρήσαμε προβλήματα κατά την αιμοληψία, όπως μειωμένη ροή αίματος, μικροθρόμβοι, οίδημα, πόνο ακόμα και κατασκευαστικά ή μηχανικά προβλήματα με τους φλεβοκαθετήρες.

## **19. 24ώρη συλλογή ούρων.**

Η μέτρηση της ελεύθερης κορτιζόλης των ούρων είναι ένα συχνά χρησιμοποιούμενο μη επεμβατικό διαγνωστικό τεστ. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το 8-10% της κορτιζόλης του πλάσματος είναι μη δεσμευμένη και φυσιολογικά δραστική. Η μη δεσμευμένη κορτιζόλη, φιλτράρεται από τους νεφρούς και το μεγαλύτερο ποσοστό της επαναροφάται από τα νεφρικά σωληνάρια, με ένα μικρό ποσοστό να εκκρίνεται στα ούρα. Η ύπαρξη υπέρμετρης έκκρισης κορτιζόλης οδηγεί στον κορεσμό της δεσμευτικής πρωτεΐνης της κορτιζόλης (CBG) με αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης της ελεύθερης κορτιζόλης των ούρων. Για την μέτρηση της κορτιζόλης ούρων χρησιμοποιούνται οι μέθοδοι της ραδιοανοσοπροσδιορισμού και της υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας. Οι περισσότερες μελέτες για την κορτιζόλης των

ούρων έχουν πραγματοποιηθεί στα πλαίσια της διάγνωσης του συνδρόμου Cushing, μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από παθολογικά αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης στο πλάσμα<sup>75</sup>.

Οι μελέτες αυτές έχουν δείξει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα σε 5.6% των περιπτώσεων και ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε 3.3 % των περιπτώσεων, ενώ η ευαισθησία και η ειδικότητα για την διάγνωση του συνδρόμου Cushing σε σύγκριση με υγιή άτομα είναι 100% και 98% αντίστοιχα. Αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης ούρων έχουν επίσης βρεθεί σε εγκυμονούσες γυναίκες. 40-60% ασθενών με κατάθλιψη, ασθενείς με Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών και σε περιπτώσεις ψευδο- Cushing.<sup>76</sup> Συνεπώς η μέτρηση της κορτιζόλης των ούρων έχει υψηλή ευαισθησία αναφορικά με την διάγνωση καταστάσεων που προκαλούν υπερκορτιζολαιμία αλλά δεν έχει υψηλή ειδικότητα<sup>77-79</sup>.

Η μέθοδος της υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας αποτελεί την ενδεδειγμένη μέθοδο μέτρησης της κορτιζόλης των ούρων καθώς επιτρέπει τον διαχωρισμό άλλων μεταβολιτών των γλυκοκορτικοειδών. Σε περιπτώσεις λήψης φαρμάκων όπως η διγοξίνη και η καρβαμαζεπίνη, η μέθοδος υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας μπορεί να δώσει ψευδώς αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης ούρων<sup>80,81</sup>.

Οι οδηγίες που είχαν δοθεί στους συμμετέχοντες για την 24 ωρη συλλογή ούρων ήταν οι εξής:

1. Η συλλογή των ούρων ξεκινούσε στις 8 π.μ.
2. Η πρώτη ούρηση δεν συμπεριλαμβάνονταν στην συλλογή καθώς , το δείγμα αυτό είχε παραχθεί το προηγούμενο 24ωρο και κατακρατηθεί στη ουροδόχο κύστη την νύχτα.
3. Η συλλογή γινόταν σε ένα απλό πλαστικό μπουκάλι, για παράδειγμα ένα άδειο μπουκάλι νερού.
4. Μετά την απόρριψη της πρώτης πρωινής ούρησης, κάθε ούρηση συλλεγόταν σε ένα δοχείο.
5. Το δοχείο έπρεπε να συντηρηθεί στο ψυγείο.

6. Το δοχείο έπρεπε να έχει σημειωθεί με το όνομα, την ημερομηνία και την ώρα έναρξης της συλλογής των ούρων.
7. Η συλλογή των ούρων ολοκληρωνόταν τη επόμενη μέρα το πρωί και συμπεριλάμβανε την πρώτη πρωινή ούρηση.
8. Η συλλογή των ούρων έπρεπε να γίνει για δυο 24ωρα, 2 ημέρες πριν το ραντεβού για το CRH τεστ. Η παραμονή του δοχείου συλλογής ούρων για 2 ώρες εκτός ψυγείου δεν επηρέαζε το δείγμα, αν και οι συμμετέχοντες λάμβαναν την οδηγία να μεταφέρουν τα δοχεία σε φορητό καταψύκτη ή συσκευές διατήρησης της θερμοκρασίας.
9. Οι συμμετέχοντες έπρεπε να διατηρήσουν την καθημερινή τους ρουτίνα.
10. Οι συμμετέχοντες έπρεπε να διατηρήσουν την συνηθισμένη κατανάλωση νερού και ενυδάτωση.
11. Οι συμμετέχοντες έπρεπε να αποφύγουν την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών

Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την ανάλυση της 24ωρης συλλογής ούρων είναι:

1. Η μη συλλογή κάποιας ούρησης ή η συλλογή παραπάνω ούρων πέρα από το 24 ωρο.
2. Η μη διατήρηση των ούρων στο ψυγείο.
3. Έντονες καταστάσεις στρες
4. Έντονη σωματική άσκηση
5. Τραύμα ή ασθένεια
6. Κατανάλωση αλκοόλ
7. Εγκυμοσύνη. Η εγκυμοσύνη μπορεί να διπλασιάσει τα επίπεδα κορτιζόλης στα ούρα.
8. Αφυδάτωση
9. Φάρμακα όπως: γλυκοκορτικοειδή, ανδρογόνα, οιστρογόνα, αντιεπιληπτικά και ψυχοτρόπα φάρμακα , τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά, λίθιο, αντιβιοτικά της κατηγορίας των αζόλων.
10. Νεφρική νόσος. Άτομα με νεφρική νόσο μπορεί να έχουν ψευδώς μειωμένα επίπεδα κορτιζόλης των ούρων.

## Τιμές αναφοράς

0-2 έτη : μη καθορισμένα

3-8 έτη : 1.4-20 mcg/24 ώρες

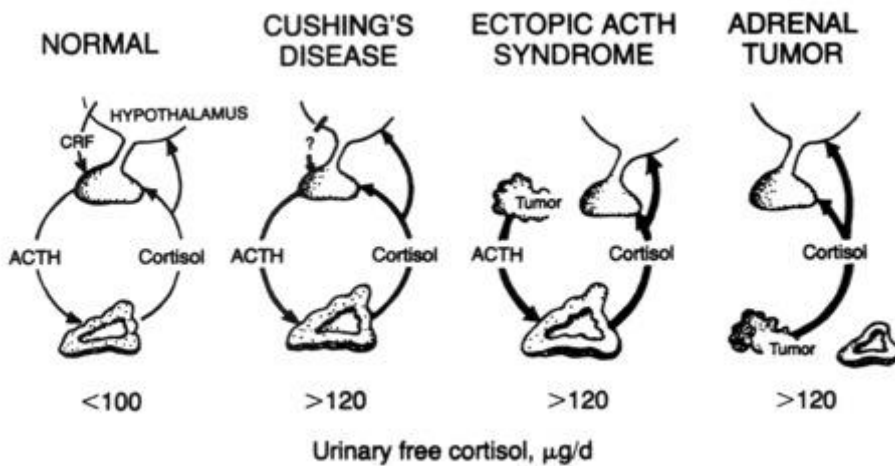
9-12 έτη : 2.6-37 mcg/24 ώρες

13-17 έτη : 4.0-56 mcg/24 ώρες

> or =18 έτη : 3.5-45 mcg/24 ώρες

Ο παράγοντας μετατροπής των mcg/24 ώρες σε nmol/24 ώρες είναι:

Κορτιζόλη : mcg/24 ώρες x 2.76=nmol/24 ώρες (μοριακό βάρος =362.5)



**Εικόνα 3:** Επίπεδα ελεύθερης κορτιζόλης ούρων σε διάφορες διαταραχές του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης – επινεφριδίων.

## 20. Συλλογή σιέλου

Στον άνθρωπο, οι παρωτίδες, οι μεγαλύτεροι σιελογόνοι αδένες, είναι αμιγώς ορογόνοι. Το υδατικό τους έκκριμα δεν περιέχει βλέννες. Οι υπογνάθιοι και οι υπογλώσσιοι αδένες είναι μικτοί βλεννογόνοι και ορογόνοι αδένες που εκκρίνουν παχύρρευστο σίελο, ο οποίος περιέχει βλέννες. Στη στοματική κοιλότητα βρίσκονται επίσης πολλοί μικρότεροι σιελογόνοι αδένες. Οι σιελογόνοι αδένες εκκρίνουν τεράστια ποσότητα σιέλου. Η μέγιστη έκκριση στον άνθρωπο είναι 1ml/min/g αδένα, δηλαδή οι αδένες παράγουν τόσο σίελο ανά λεπτό όσο είναι το βάρος τους. Οι σιελογόνοι αδένες έχουν υψηλό ρυθμό μεταβολισμού και αιματικής ροής, τα οποία είναι ανάλογα προς το ρυθμό παραγωγής σιέλου. Στον άνθρωπο, ο σίελος είναι πάντα υποτονικός, αφού οι συγκεντρώσεις  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  είναι μικρότερες από αυτές του πλάσματος. Όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός της έκκρισης τόσο μεγαλύτερη είναι η τονικότητα του σιέλου, η οποία είναι το 70% της τονικότητας του πλάσματος. Το pH του σιέλου από αδένες που βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, είναι ελαφρώς όξινο.

Εν τούτοις, κατά τη διάρκεια ενεργού έκκρισης, ο σίελος καθίσταται αλκαλικός και το pH του προσεγγίζει το 8. Ο σίελος περιέχει την  $\alpha$ -αμυλάση, η οποία αρχίζει την πέψη του αμύλου και βλέννα που λιπαίνει την τροφή. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στο σίελο, όπως η λακτοφερίνη, η λυσοζύμη και η υπεροξειδάση αναστέλλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών στην στοματική κοιλότητα.

Ο σίελος αποτελείται τόσο από οργανικά όσο και ανόργανα συστατικά. Στα ανόργανα συστατικά συμπεριλαμβάνονται το νερό και οι ηλεκτρολύτες ενώ στα οργανικά ανήκουν ένζυμα, πρωτεΐνες, αυξητικοί παράγοντες και ορμόνες.

Μελέτες για την χρησιμότητα της μέτρησης της κορτιζόλης σιέλου ξεκίνησαν το 1980. Η κορτιζόλη σιέλου ακολουθεί τον ημερήσιο ρυθμό έκκρισης της κορτιζόλης του πλάσματος και έχει 5 με 10 φορές μικρότερη συγκέντρωση από τα επίπεδα κορτιζόλης στο πλάσμα. Τα



υψηλότερα επίπεδα κορτιζόλης σιέλου εμφανίζονται αμέσως μετά την αφύπνιση το πρωί , μειώνονται κατά την διάρκεια της ημέρας και φτάνουν τα χαμηλότερα επίπεδα το βράδυ<sup>82-84</sup>.

Η μέτρηση της κορτιζόλης σιέλου έχει τα πλεονεκτήματα σε σχέση με την μέτρηση της κορτιζόλης πλάσματος ότι αποφεύγεται το στρες της φλεβοκέντησης , τα δείγματα λαμβάνονται κατά την καθημερινότητα του κάθε ατόμου και μόνο η βιοδραστική μορφή της ορμόνης εκτιμάται. Επίσης δεν απαιτείται η νοσηλεία ή κλινική επίσκεψη για την συλλογή και οι ασθενείς μπορούν να πραγματοποιήσουν την συλλογή στο σπίτι τους.<sup>85</sup>

Τα δείγματα συγκεντρώνονται με την εκτόξευση της σιέλου σε ένα δοχείο ή την χρησιμοποίηση απορροφητικών μάκτρων που τοποθετούνται στο στόμιο μέχρι να κορεστούν με σάλιο. Για την μέτρηση της κορτιζόλης σιέλου έχουν αναπτυχθεί διάφορα μέσα όπως η μέθοδος της ραδιοανοσοπροσδιορισμού και η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας και διαδοχική φασματομετρία μάζας. Η ευαισθησία ποικίλει μεταξύ των μεθόδων αυτών αλλά και το ενδεχόμενο διασταυρούμενης αντιδραστικότητας με άλλα στεροειδή. Η ερμηνεία των επιπέδων κορτιζόλης σιέλου εξαρτάται από την αυστηρή τυποποίηση της δειγματοληψίας, το πρωτόκολλο δειγματοληψίας και την τεχνολογία που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των επιπέδων της κορτιζόλης σιέλου<sup>86</sup>.

Κλινικά, η κορτιζόλη σιέλου χρησιμοποιείται για την διάγνωση του συνδρόμου Cushing. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ευαισθησία της κορτιζόλης σιέλου για την διάγνωση του συνδρόμου Cushing είναι 90% , που συγκριτικά με άλλες μεθόδους όπως η 24ωρη συλλογή ούρων και το τεστ καταστολής με δεξαμεθαζόνη βρίσκεται σε αναλογία. Η κορτιζόλη σιέλου έχει επίσης μελετηθεί στην διάγνωση της επινεφριδειακής ανεπάρκειας και στην παρακολούθηση της θεραπείας με γλυκοκορτικοειδή. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί σαν βιοδείκτης στην έρευνα για ψυχολογικό στρες<sup>87,88</sup>.

Το ποσοστό της κορτιζόλης σιέλου σε σχέση με το συνολικό ποσοστό κορτιζόλης είναι μεταξύ 2-9% και δεν ακολουθούν εκθετική αύξηση με τα επίπεδα κορτιζόλης του ορού, σε περίπτωσης διέγερσης του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων αλλά και σε περιπτώσεις που επηρεάζουν τα επίπεδα της δεσμευτικής σφαιρίνης της κορτιζόλης, όπως τα αντισυλληπτικά, η εγκυμοσύνη και ο έμμηνος κύκλος. Επίσης, η σχέση μεταξύ ολικής και ελεύθερης κορτιζόλης αλλάζει όταν τα επίπεδα της δεσμευτικής σφαιρίνης της κορτιζόλης έχουν κορεστεί. Παρά τις παραπάνω καταστάσεις, η κορτιζόλη σιέλου φαίνεται ότι έχει επαρκή αναλογία με τα ολικά επίπεδα κορτιζόλης<sup>89,90</sup>.

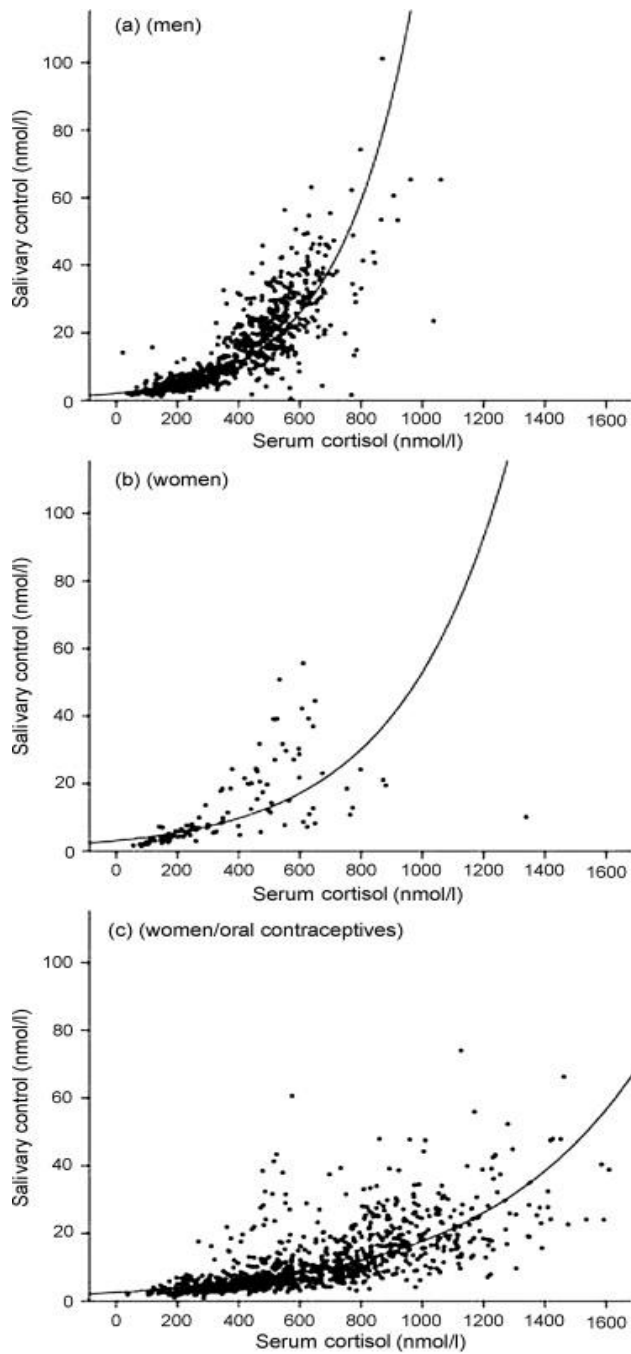
Οι συγκεντρώσεις της κορτιζόλης στο σίελο για τους έφηβους κυμαίνονται από 0,171,2 μg/dl στις 8 το πρωί και 0,10-0,33 μg/dl στις 4 το απόγευμα. Οι αντίστοιχες τιμές για τους ενήλικες είναι 0,18-0,95 μg/dl στις 8 το πρωί και 0,10-0,28 μg/dl στις 4 το απόγευμα.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την παρουσία ορμονών στο σίελο είναι παρόμοιοι με αυτούς των φαρμάκων, αφού οι περισσότερες από τις ορμόνες εισέρχονται στο σίελο με παθητική διάχυση. Οι περισσότερες από αυτές τις ορμόνες είναι λιποδιαλυτές (π.χ. στεροειδή) και τα επίπεδά τους στο σίελο αντιπροσωπεύουν το κλάσμα της μη δεσμευμένης (ελεύθερης) ορμόνης. Επιπρόσθετα κάποια στεροειδή μπορεί να μεταβολιστούν στα επιθηλιακά κύτταρα του σιέλου από ενδοκυτταρικά ένζυμα, κατά τη διάρκεια της διάχυσής τους. Κάτι τέτοιο, επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα τους

Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα κορτιζόλης σιέλου:

1. Ηλικία. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα παιδιά και οι έφηβοι έχουν μεγαλύτερη έκκριση κορτιζόλης που σχετίζεται με την ανάπτυξη τους.
2. Φύλο. Σε καταστάσεις στρες τα επίπεδα κορτιζόλης είναι διπλάσια στους άντρες από ότι στις γυναίκες.
3. Έμμηνος κύκλος: Οι γυναίκες που βρίσκονται στην θυλακιάδη φάση του έμμηνου κύκλου και οι γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά έχουν χαμηλότερα επίπεδα κορτιζόλης σε σχέση με γυναίκες που βρίσκονται στην ωχρινική φάση του κύκλου.

4. Εγκυμοσύνη. Η εγκυμοσύνη αυξάνει τα επίπεδα της κορτιζόλης , ενώ ο θηλασμός τα μειώνει
5. Νικοτίνη. Η νικοτίνη μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα κορτιζόλης λόγω ενεργοποίησης του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων. Μελέτες έχουν δείξει ότι καπνιστές μετά από το κάπνισμα έστω 2 τσιγάρων εμφανίζουν σημαντική αύξηση στα επίπεδα κορτιζόλης της σιέλου. Επιπλέον, κοινωνικοί καπνιστές έχουν μειωμένη απάντηση της κορτιζόλης σιέλου σε ψυχολογικά στρεσογόνες καταστάσεις.
6. Καφεΐνη και αλκοόλ.
7. Έντονη σωματική άσκηση μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα κορτιζόλης στο σάλιο
8. Φάρμακα. Γλυκοκορτικοειδή, ψυχοτρόπα και αντικαταθλιπτικά φάρμακα.



**Σχήμα 5 :** Σχέση κορτιζόλης πλάσματος και κορτιζόλης σιέλου στις γυναίκες, άντρες και γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά. Από μελέτη Vining et al 1983.

Οι συμμετέχοντες στην μελέτη μας λάμβαναν ταχυδρομικώς ένα πακέτο που περιείχε 4, ειδικά σχεδιασμένες συσκευές συλλογής σιέλου (Salivette), καθώς και τις εξής οδηγίες για την συλλογή σιέλου

#### Οδηγίες για την συλλογή σιέλου

- Αρχικά η στοματική κοιλότητα ξεπλένεται με νερό
- Κατόπιν αφαιρείται το καπάκι και λαμβάνεται ο σπόγγος που εμπεριέχεται μέσα.
- Ο σπόγγος τοποθετείται κάτω από την γλώσσα για περίπου ένα λεπτό μέχρι να κορεστεί με σάλιο.
- Ο σπόγγος τοποθετείται ξανά στην salivette και το σωληνάριο κλείνει με το καπάκι.
- Συστήνεται η αποφυγή φαγητού ή αφεψημάτων 30 λεπτά πριν την συλλογή σιέλου
- Συστήνεται η αποφυγή λήψης εισπνεόμενων με στεροειδή
- Συστήνεται η αποφυγή καθαρισμού ή βουρτσίσματος των δοντιών που μπορούν να προκαλέσουν μικρό τραυματισμούς και μικρο-αιμορραγίες στην στοματική κοιλότητα.
- Αποφυγή εύρεσης και χρησιμοποίησης των salivettes από μικρά παιδιά, κυρίως ηλικίας κάτω των 3 ετών.

Οι salivettes είχαν σημειωθεί με τον κωδικό που αντιστοιχούσε στον κάθε συμμετέχοντα και την ώρα που έπρεπε να ληφθεί το κάθε δείγμα. Οι καθορισμένες ώρες λήψης της συλλογής σιέλου ήταν 8 π.μ., 12 μ.μ., 16 μ.μ., 20 μ.μ. και 24 π.μ.



Εικόνα 4: Συσκευή συλλογής σιέλου –Salivette



Εικόνα 5 : Σχηματική απεικόνιση της συλλογής σιέλου με salivette

## **21. Επεξεργασία δειγμάτων**

### **21.1 Δείγματα αίματος**

Μετά τη συλλογή, τα δείγματα αίματος φυγοκεντρήθηκαν στις 3500 rpm για 15 λεπτά. Κάθε υπερκείμενο μοιράστηκε σε 2-3 γυάλινα μπουκαλάκια, τα οποία διατηρήθηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι τη μέρα της μέτρησης τους. Τα μπουκαλάκια αυτά είχαν σημειωθεί με κωδικούς που αναλογούσαν σε κάθε συμμετέχοντα και την ώρα της λήψης. Η φυγοκέντρωση και η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε σε εργαστήριο του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν μέσα σε πάγο, στο βιοχημικό εργαστήριο του Ευγενίδιου Ιατρικού Κέντρου.

### **21.2 Δείγματα σιέλου**

Οι συμμετέχοντες στην μελέτη παρέδιδαν τα δείγματα σιέλου την ημέρα του CRH τεστ. Τα δείγματα μπορούν να διατηρηθούν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 4 εβδομάδες. Παρ'όλα αυτά επειδή μπορούν οι salivettes να αναπτύξουν μύκητες, διατηρήσαμε τα δείγματα των salivettes σε θερμοκρασία  $-80^{\circ}\text{C}$ . Τα δείγματα σιέλου, δεν απαιτείται επίσης να μεταφερθούν σε χαμηλή θερμοκρασία, συνεπώς μεταφέρθηκαν με ένα απλό κιβώτιο μεταφοράς στο βιοχημικό εργαστήριο του Ευγενίδιου Ιατρικού Κέντρου.

### 21.3 Δείγματα ούρων

Για κάθε 24ώρη συλλογή ούρων ο όγκος των ούρων μετρήθηκε, σημειώθηκε και κατόπιν παραδόθηκε στο εργαστήριο. Από κάθε δείγμα, 3 ml ούρων μεταφέρθηκαν σε σωληνάρια και διατηρήθηκαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι τη μέρα της μέτρησης τους. Τα δείγματα ούρων μεταφέρθηκαν κατόπιν σε πάγο, μέσα σε χρονικό διάστημα 2 εβδομάδων από την επεξεργασία τους στο βιοχημικό εργαστήριο του Ευγενίδιου Ιατρικού Κέντρου.

### 22. Χημική ανάλυση δειγμάτων

Τα επίπεδα κορτιζόλης καθορίστηκαν με την μέθοδο χημειοφωταύγειας ( two-site Chemiluminescent Immunoassay CLIA (Immulite 2000, SIEMENS Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd, UK) με ευαισθησία 0.2  $\mu\text{g/dL}$ . Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 6.1%, 5.3% and 7.4% για συγκεντρώσεις 3.3, 18, και 31  $\mu\text{g/dL}$ , αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 8.2%, 7.2%, and 9.4% για συγκεντρώσεις 3.3, 18, and 31  $\mu\text{g/dL}$ , αντίστοιχα.

Οι συγκεντρώσεις ACTH καθορίστηκαν με την μέθοδο χημειοφωταύγειας ( two-site Chemiluminescent Immunoassay CLIA (Immulite 2000, SIEMENS Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd, UK) με ευαισθησία 5  $\text{pg/mL}$ . Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 3.1% –9.6% και οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 5.1% - 9.2%.

Οι συγκεντρώσεις της δεσμευτικής σφαιρίνης των στεροειδών ,Corticosteroid-binding globulin (CBG) καθορίστηκαν με την μέθοδο ραδιοανοσολογίας (Radioimmunoassay (RIA), Diasource Immunoassays SA, Louvain-la-Neuve, Belgium) με ευαισθησία 0.26  $\mu\text{g/mL}$ . Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 8.6% και 3.9% για συγκεντρώσεις 23.1 and 83.3  $\mu\text{g/mL}$  , αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 10.8% και 4.8% για συγκεντρώσεις 24.7 και 114  $\mu\text{g/mL}$ , αντίστοιχα.



Οι συγκεντρώσεις της 17 υδροξυπρογεστερόνης καθορίστηκαν με την μέθοδο ραδιοανοσολογίας ( Radioimmunoassay (RIA), Diasource Immunoassays SA, Louvain-la-Neuve, Belgium) με ευαισθησία 0.02 ng/mL . Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation) ήταν 6.2%, 5.6% και 5.1% για συγκεντρώσεις 0.43 ,2.35 και 7.55 ng/mL , αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 9.2% και 5.2 % για συγκεντρώσεις 0.77 και 1.97 ng/mL, αντίστοιχα.

Οι συγκεντρώσεις της ανδροστενεδιόνης καθορίστηκαν με την μέθοδο χημειοφωταύγειας ( two-site Chemiluminescent Immunoassay CLIA (Immulite 2000, SIEMENS Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd, UK) με ευαισθησία 0.3 ng/mL. Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 11.3 %, 6,7%, 6.3% and 4,1 % για συγκεντρώσεις 0.53, 0.75, 1.28, και 3.63 μg/dL, αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 13.2%, 8,7%, 4.4% και 5.9% για συγκεντρώσεις 0.53, 0.75, 1.28, 3.63, 7.99 ng/mL, αντίστοιχα.

Επιπρόσθετες μετρήσεις: Οι συγκεντρώσεις της τεστοστερόνης, της προλακτίνης , της DHEA-S, της FSH και LH καθορίστηκαν με την μέθοδο χημειοφωταύγειας ( two-site Chemiluminescent Immunoassay CLIA (Immulite 2000, SIEMENS Healthcare Diagnostics Products Ltd. Llanberis, Gwynedd, UK). Η αναλυτική ευαισθησία για την τεστοστερόνη ήταν 0,15 ng/mL. Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 16.3 %, 11.7%, 10% για συγκεντρώσεις 0.27, 0.86 και 1.52 μg/dL, αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 24.3%, 13% και 10.3% για συγκεντρώσεις 0.27, 0.86 και 1.52 ng/mL , αντίστοιχα.

Η αναλυτική ευαισθησία για την προλακτίνη ήταν 0.5 ng/mL. Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( intra-assay coefficients of variation ) ήταν 3.3%, 3.3% και 2.7% για συγκεντρώσεις 5.5, 11.9 και

22.3 μg/dL, αντίστοιχα. Οι συντελεστές μεταξύ ανάλυσης ( inter-assay coefficients of variation) ήταν 4.9%, 4.8% και 4% για συγκεντρώσεις 5.5, 11.9 και 22.3 ng/mL , αντίστοιχα.

Η αναλυτική ευαισθησία για την DHEA-S ήταν 3 μg/dL, για την FSH ήταν 0.1 mUI/mL και για την LH ήταν 0.05 mUI/mL. Οι συντελεστές εντός ανάλυσης ( inter-assay CVs ) για την DHEA-S ήταν 13%, 9.8% και 9.3% για συγκεντρώσεις 52, 163 και 214 μg/dL, αντίστοιχα, για την FSH ήταν 4.1%, 4.8% και 4.1% για συγκεντρώσεις .8, 21.9, 44.4 ng/mL, αντίστοιχα και για την LH ήταν 6.6%, 6.2% και 6.7% για συγκεντρώσεις 1.04, 1.89 και 8.7 ng/mL αντίστοιχα

## 23. Αποτελέσματα

### 23.1 Στατιστική ανάλυση

Ξεκινήσαμε την στατιστική μας ανάλυση με την περιγραφή της βάσης δεδομένων μας. Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέση τιμή( mean value) και δειγματική τυπική απόκλιση( standard deviation). Η δειγματική μθέση τιμή είναι το πιο γνωστό και χρήσιμο μέτρο του κέντρου των δεδομένων, συμβολίζεται  $\bar{x}$  κι ορίζεται ως:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Η διασπορά ή διακύμανση μετράει τη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων γύρω από τη μέση τιμή. Αν ορίσουμε την απόκλιση μμιας παρατήρησης  $x_i$  από τη μέση τιμή  $x_i - \bar{x}$ , είναι φανερό πως το άθροισμα όλων αυτών των αποκλίσεων είναι 0 γιατί χρησιμοποιώντας τον ορισμό της δειγματικής μμέσης τιμής έχουμε:

$$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) = \sum_{i=1}^n x_i - \sum_{i=1}^n \bar{x} = n\bar{x} - n\bar{x} = 0$$

Η δειγματική μέση τιμή έχει οριστεί έτσι ώστε οι θετικές αποκλίσεις για τιμές μεγαλύτερες του  $\bar{x}$  να είναι αθροιστικά ίδιες με τις αρνητικές αποκλίσεις για τιμές μικρότερες του  $\bar{x}$ . Για να μετρήσουμε λοιπόν τη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων γύρω από τη μέση τιμή διαλέγουμε να αθροίσουμε όχι τις ίδιες τις αποκλίσεις αλλά τα τετράγωνα των αποκλίσεων. Επίσης για να πάρουμε ένα μέτρο της μμέσης απόκλισης που δεν εξαρτάται από το πλήθος των παρατηρήσεων θα πρέπει να διαιρέσουμε με το πλήθος  $n$  των παρατηρήσεων. Η δειγματική διασπορά  $s^2$  ορίζεται ως:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i^2 - n\bar{x})$$

Η διασπορά προκύπτει από τα τετράγωνα των παρατηρήσεων και συχνά είναι δύσκολο να την ερμηνεύσουμε ως πραγματικό φυσικό μέγεθος. Για αυτό ορίζουμε τη δειγματική τυπική απόκλιση  $s$ , που είναι απλά η θετική ρίζα της δειγματικής διασποράς. Η τυπική απόκλιση  $s$  μετριέται με τη μονάδα μέτρησης της τιμής  $X$  και εκφράζει (όπως δηλώνει η ονομασία της) την τυπική απόκλιση των δεδομένων από τη δειγματική μέση τιμή, δηλαδή μέχρι πόσο περίπου περιμένουμε μια τυπική τιμή της  $X$  να απέχει από τη μέση τιμή.

Οι ποιοτικές μεταβλητές περιγράφηκαν με την βοήθεια κατασκευής πίνακα συχνοτήτων. Η κανονικότητα των ποσοτικών μεταβλητών εκτιμήθηκε με το Kolmogorov-Smirnov τεστ. Το Kolmogorov-Smirnov τεστ είναι ένα μη παραμετρικό τεστ που εξετάζει και συγκρίνει την κατανομή ποσοτικών μεταβλητών ενός ή δύο δειγμάτων. Συγκεκριμένα, υπολογίζει την απόσταση

μεταξύ εμπειρικής κατανομής ενός δείγματος και της συγκεντρωτικής κατανομής του δείγματος αναφοράς. Η μηδενική κατανομή υπολογίζεται κάτω από την μηδενική υπόθεση ότι το δείγμα λαμβάνεται μέσα από τον πληθυσμό αναφοράς ή αν πρόκειται για δυο δείγματα ότι τα δείγματα λαμβάνονται μέσα από την ίδια κατανομή. Σε κάθε περίπτωση, οι κατανομές αφορούν συνεχείς μεταβλητές και μη περιορισμένες. Το Kolmogorov-Smirnov τεστ επίσης χρησιμοποιείται και σαν goodness to fit τεστ, όπου εξετάζει την κανονικότητα μιας κατανομής μεταβλητών. Στην περίπτωση αυτή, τα δείγματα τυποποιούνται και συγκρίνονται με την πρότυπο φυσιολογική κατανομή.

Η κανονικότητα των ποιοτικών μεταβλητών ελέγχθηκε με την εφαρμογή του μη παραμετρικού τεστ Mann-Whitney U. Το Mann-Whitney U τεστ είναι το μη παραμετρικό ισοδύναμο του t-τεστ δυο ανεξάρτητων ομάδων και εξετάζει αν οι μέσες τιμές δυο δειγμάτων που προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό είναι ίδιες ή όχι. Το Mann-Whitney U τεστ είναι μη παραμετρικό και συνεπώς χρησιμοποιείται όταν τα δεδομένα είναι τακτικής κλίμακας ή όταν οι υποθέσεις του t-τεστ δεν μπορούν να αποδειχθούν. Οι υποθέσεις που απαιτούνται για το Mann-Whitney U τεστ είναι οι εξής: η λήψη του δείγματος από τον γενικό πληθυσμό είναι τυχαία, τα δυο δείγματα είναι ανεξάρτητα μεταξύ τους και πως τα δεδομένα ανήκουν σε τακτική κλίμακα.

Υπολογισμός του Mann-Whitney U:

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - \sum_{i=n_1+1}^{n_2} R_i$$

Όπου:

U=Mann-Whitney U test

N<sub>1</sub> = πρώτο δείγμα

N<sub>2</sub>= δεύτερο δείγμα

R<sub>i</sub> = τάξη του δείγματος

Για την σύγκριση ποιοτικών μεταβλητών μεταξύ των ομάδων των cases και controls εφαρμόσαμε το Chi-square τεστ ( $\chi^2$ ). Το στατιστικό τεστ είναι ίσως το πιο δημοφιλές μη παραμετρικό τεστ. Ο ερευνητής έχει στη διάθεση του ένα δείγμα ποιοτικών δεδομένων

οργανωμένο σε ονομαστικές κατηγορίες, και ο στόχος είναι να χρησιμοποιηθούν τα δεδομένα αυτά ώστε να προσδιοριστεί η αναλογία (ή το ποσοστό) του πληθυσμού που ανήκει στην κάθε κατηγορία.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου διατυπώνεται μια μηδενική υπόθεση, που είτε δηλώνει ότι δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη προτίμηση στις διαθέσιμες ονομαστικές κατηγορίες (no-preference null-hypothesis), είτε δηλώνει ότι τα ποσοστά που προτιμώνται από τα υποκείμενα δε διαφέρουν από τα ποσοστά άλλων πληθυσμών οι οποίοι αποτελούν το σημείο αναφοράς (no-difference from a comparison population). Και στις δύο περιπτώσεις, αυτό που προσδιορίζει η μηδενική υπόθεση είναι ο αναμενόμενος αριθμός (expected frequency –  $f_e$ ) των υποκείμενων που ανήκει σε κάθε ονομαστική κατηγορία. Ο έλεγχος υποθέσεων που ακολουθεί αξιολογεί αυτή τη μηδενική υπόθεση, συγκρίνοντας τον αριθμό των υποκείμενων που αναμένεται σε κάθε ονομαστική κατηγορία με τον αριθμό των υποκείμενων που παρατηρείται ότι ανήκει σε κάθε ονομαστική κατηγορία (observed frequency -  $f_o$ ), με βάση τις μμετρήσεις του δείγματος.

Ο στατιστικός δείκτης ελέγχου που χρησιμοποιείται για αυτή την αξιολόγηση είναι το  $\chi^2$ . Οι κρίσιμες τιμές για το στατιστικό δείκτη ελέγχου  $\chi^2$  δίνονται από την κατανομή:

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}$$

όπου  $f_e$  και  $f_o$  η αναμενόμενη και η παρατηρούμενη συχνότητα,  $df=C-1$ , όπου C ο αριθμός των ονομαστικών κατηγοριών.

Αν και, όπως αναφέραμε, τα μη-παραμετρικά τεστ δε χρειάζεται να ικανοποιούν συγκεκριμένες προϋποθέσεις, τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την εφαρμογή του  $\chi^2$  στατιστικού τεστ είναι πιο αξιόπιστα όταν χρησιμοποιείται αντιπροσωπευτικό δείγμα, και η αναμενόμενη συχνότητα όλων των κατηγοριών είναι μεγαλύτερη από πέντε.

Η συσχέτιση μεταξύ ενδοκρινικών και ψυχομετρικών παραμέτρων έγινε με βάση του υπολογισμού του συντελεστή συσχέτισης Pearson (Pearson correlation). Η συσχέτιση (correlation) είναι μία στατιστική τεχνική που επιτρέπει την παρατήρηση δύο μεταβλητών στο "φυσικό τους περιβάλλον" (μη-ελεγχόμενο περιβάλλον), και ο προσδιορισμός της σχέσης που τις συνδέει. Ο υπολογισμός του συντελεστή συσχέτισης απαιτεί τη μέτρηση δύο μεταβλητών για κάθε υποκείμενο (τα οποία συνήθως συμβολίζονται με X,Y), σε ένα μη-ελεγχόμενο περιβάλλον. Ο στόχος της τεχνικής είναι να προσδιορίσει τη σχέση που συνδέει τις δύο μετά.

Οι τιμές που μπορεί να πάρει ο συντελεστής συσχέτισης κυμαίνονται από -1 έως +1. Αν η τιμή του είναι θετική, τότε οι δύο μεταβλητές τείνουν να μεταβάλλονται προς την ίδια κατεύθυνση, δηλαδή όταν αυξάνεται η μία αυξάνεται και η άλλη. Αν αντίθετα η τιμή του είναι αρνητική, τότε οι μεταβλητές τείνουν να κινούνται προς την αντίθετη κατεύθυνση, δηλαδή όταν η μία αυξάνεται η άλλη μειώνεται. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του συντελεστή συσχέτισης (ανεξαρτήτως πρόσημου), τόσο μεγαλύτερη είναι η σχέση που συνδέει τις δύο μεταβλητές. Στην ακραία περίπτωση που οι δύο μεταβλητές έχουν συντελεστή συσχέτισης 0, ο ερευνητής μπορεί να συμπεράνει ότι δεν υπάρχει κάποια σχέση ανάμεσα στις μεταβλητές, υπολογίζοντας την τιμή του συντελεστή συσχέτισης.

Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson συμβολίζεται με το γράμμα  $r$ , και δίνεται από τη μαθηματική σχέση:

$$r = \frac{SP}{\sqrt{SS_x SS_y}}, SP = \sum_{xy} - \frac{(\sum_x)(\sum_y)}{n}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι η τιμή του συντελεστή συσχέτισης υψωμένη στο τετράγωνο ( $r^2$ ) εκφράζει το ποσοστό της διακύμανσης (αλλαγές στην τιμή) της  $Y$  μεταβλητής που μπορεί να προβλεφθεί από τη διακύμανση της  $x$  μεταβλητής. Για παράδειγμα, αν ο συντελεστής συσχέτισης έχει υπολογιστεί σε  $r=0.80$ , τότε το  $r^2=0.64=64\%$  των αλλαγών της  $y$  μεταβλητής μπορεί να προβλεφθεί από τις αλλαγές στην  $x$  μεταβλητή. Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε ότι όταν ο ερευνητής θέλει να βγάλει συμπεράσματα και να ποσοτικοποιήσει τις σχέσεις ανάμεσα σε παραμέτρους του πληθυσμού, μπορεί να χρησιμοποιήσει το συντελεστή συσχέτισης ως στατιστικό δείκτη ελέγχου σε μία μέθοδο ελέγχου υποθέσεων. Σε αυτήν την περίπτωση, η μηδενική υπόθεση δηλώνει ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση ανάμεσα στις δύο υπό εξέταση παραμέτρους, και οι κρίσιμες περιοχές ορίζονται από τιμές που βρίσκονται σε στατιστικούς πίνακες με κρίσιμες τιμές για το συντελεστή συσχέτισης Pearson.

Η καμπύλη ROC ( Receiver operated curve ) χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του εμβαδού κάτω από την καμπύλη AUC ( Area under the curve) για κάποιες ενδοκρινικές παραμέτρους. Τα ROC γραφήματα είναι δύο διαστάσεων γραφήματα στα οποία η ευαισθησία σχεδιάζεται στον  $y$  άξονα και η ειδικότητα στον  $x$  άξονα. Η ROC καμπύλη είναι μία δυσδιάστατη απεικόνιση της αναπαράστασης ενός ταξινομητή. Για την σύγκριση ταξινομητών, περιορίζουμε τη ROC αναπαράσταση σε μία απλά βαθμιδωτή τιμή, η οποία αντιπροσωπεύει την αναμενόμενη αναπαράσταση. Μία τέτοια μέθοδος είναι ο υπολογισμός του εμβαδού κάτω από τη ROC καμπύλη, το οποίο συντομογραφικά είναι γνωστό ως AUC. Επιπλέον, καθώς το AUC αποτελεί αναλογία του εμβαδού προς την τετραγωνική μονάδα, η τιμή του θα κυμαίνεται πάντα μεταξύ του 0 και του 1.0.

Το εμβαδόν AUC έχει μία πολύ σημαντική στατιστική ιδιότητα: το AUC ενός ταξινομητή είναι ισοδύναμο με την πιθανότητα ένας ταξινομητής να βαθμολογήσει ένα τυχαία επιλεγμένο θετικό περιστατικό υψηλότερα από ένα τυχαία επιλεγμένο αρνητικό περιστατικό.

Για την συσχέτιση των ενδοκρινικών αποτελεσμάτων, της μέγιστης και μέσης τιμής της ACTH, της 17OHP, της ανδροστενεδιόνης, της κορτιζόλης ούρων και σιέλου και των ψυχομετρικών παραμέτρων, των συνολικών και παραμέτρους αθροιστικού αποτελέσματος των STAI, BDI, SCL-90R, και TCI ερωτηματολογίων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (multivariate linear regression). Η γραμμική παλινδρόμηση είναι μια προσέγγιση για τη μοντελοποίηση της σχέσης μεταξύ μιας βαθμωτής εξαρτημένης μεταβλητής  $y$  και μία ή περισσότερες επεξηγηματικές μεταβλητές (ή ανεξάρτητη μεταβλητή) συμβολίζεται  $\chi$  Περίπτωση μιας επεξηγηματικής μεταβλητής ονομάζεται απλή γραμμική παλινδρόμηση. Για περισσότερες από μία επεξηγηματικές μεταβλητές, η διαδικασία ονομάζεται πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση.

Στην γραμμική παλινδρόμηση, τα δεδομένα μοντελοποιούνται χρησιμοποιώντας γραμμικές λειτουργίες προγνωστικά, και οι άγνωστες παράμετροι μοντέλου υπολογίζονται από τα δεδομένα. Τέτοια μοντέλα καλούνται γραμμικά μοντέλα. Συνηθέστερα, η γραμμική παλινδρόμηση αναφέρεται σε ένα μοντέλο στο οποίο ο υποθετικός μέσος όρος του  $y$  δεδομένης της αξίας του  $\chi$  είναι μια συνάρτηση αφινικών  $\chi$  λιγότερο συχνά, όπου η γραμμική παλινδρόμηση μπορεί να αναφέρεται σε ένα μοντέλο στο οποίο η διάμεσος, ή κάποιο άλλο ποσοστημόριο της υποθετικής διανομής  $y$  που δίνεται  $\chi$  εκφράζεται ως γραμμική συνάρτηση του  $\chi$  Όπως όλες τις μορφές ανάλυσης παλινδρόμησης, η γραμμική παλινδρόμηση επικεντρώνεται στους όρους κατανομής πιθανότητας του  $y$  που δίνονται αντί για την από κοινού πιθανότητα διανομής του  $y$  και  $\chi$ , η οποία είναι η και η περιοχή τη  $\chi$ ς πολυμεταβλητής ανάλυσης.

Το κριτήριο σημαντικότητας ( level of significance) για όλες τις αναλύσεις  $p$  value  $<0.05$ . Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό σύστημα SAS v. 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA), και οι ROC αναλύσεις με το SPSS v. 21 (SPSS Inc.).



## 23.2. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Στην μελέτη μας συμμετείχαν 42 συνολικά άτομα, 29 φορείς της 21-υδροξυλάσης και 13 γονείς παιδιών με χρόνια ενδοκρινολογικό νόσημα, που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Η μέση ηλικία για την ομάδα των φορέων ήταν 41.8 έτη ανάλογη της μέσης ηλικίας των ατόμων της ομάδας μαρτύρων. Στην ομάδα των ασθενών ( cases) συμμετείχαν 14 άντρες και 15 γυναίκες, ενώ στην ομάδα μαρτύρων ( controls) συμμετείχαν 5 άντρες και 8 γυναίκες. Η μέση τιμή του BMI των δυο ομάδων ήταν 26.9 για την ομάδα των φορέων και 24.1 για την ομάδα των μαρτύρων. Συνεπώς δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ηλικία, το φύλο και το BMI μεταξύ των δυο ομάδων. Από την αρχική μας συλλογή ατόμων, μια γυναίκα που άνηκε στην ομάδα των μαρτύρων, αποκλείστηκε από την μελέτη καθώς μας ενημέρωσε την ημέρα του CRH τεστ πως έπασχε από ψυχωσικό σύνδρομο, χωρίς διευκρίνηση της μορφής, και λάμβανε ψυχοτρόπα φάρμακα.

	Φορείς της 21-OHD (n=29)	Ομάδα μαρτύρων (n=13)	P-value*
Ηλικία, έτη	41.8 ± 1.1	43.8 ± 1.7	0.332
Φύλο			0.739
Άρρεν	14 (48.3%)	5 (38.5%)	
Θήλυ	15 (51.7%)	8 (61.5%)	
BMI, kg/m <sup>2</sup>	26.9 ± 1.0	24.1 ± 1.0	0.141

**Πίνακας 1.** Δημογραφικά και ανθρωπομετρικά δεδομένα μεταξύ ομάδων ασθενών και μαρτύρων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του CRH τεστ και των επιπρόσθετων ενδοκρινολογικών μετρήσεων, έδειξε πως οι φορείς της 21-υδροξυλάσης εμφάνισαν στατιστικά υψηλότερα επίπεδα 17-υδροξυπρογεστερόνης τόσο κατά την βασική μέτρηση, καθώς και σε

απάντηση στην χορήγηση της CRH. Χαρακτηριστικά, στα -15 λεπτά, που αντιπροσωπεύουν την μέτρηση των ενδοκρινολογικών παραμέτρων πριν την έναρξη του CRH τεστ, οι μέσες τιμές της 17-OHP, ήταν 2.7 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.4 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value 0.001). Στον χρόνο 0, οι τιμές της 17-OHP, ήταν 12.1 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.4 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value 0.003), στον χρόνο 15, που αντιστοιχεί σε 15 λεπτά μετά την χορήγηση της CRH, οι τιμές της 17-OHP, ήταν 3.0 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.6 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value 0.004). Στα 45 λεπτά, παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη στατιστικά διαφορά μεταξύ των τιμών της 17OHP στις δυο ομάδες, με 4.0 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.9 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value <0.0001). Στα 60 λεπτά, οι τιμές της 17-OHP, ήταν 3.3 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.8 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value 0.001) και στα 120 λεπτά οι τιμές της 17-OHP, ήταν 2.4 ng/mL στην ομάδα των cases σε σύγκριση με 1.5 ng/mL στην ομάδα των control ( p-value 0.006).

Τα επίπεδα της ACTH δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των cases και controls. Τα βασικά επίπεδα της ACTH, στον χρόνο -15, ήταν υψηλότερα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης (  $17.6 \pm 2.7$  pg/mL) σε σχέση με τους controls (  $10.1 \pm 1.4$  pg/mL.) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ( p-value 0.094). Στον χρόνο 45 λεπτά, τα επίπεδα της ACTH, ήταν χαμηλότερα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ( $28.9 \pm 2.4$  pg/mL.) σε σχέση με τους controls ( $30.7 \pm 4.2$  pg/mL.) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ( p-value 0.735). Επιπρόσθετα, στον χρόνο 120 λεπτά, τα επίπεδα ACTH ήταν περίπου παρόμοια μεταξύ των ομάδων cases ( $11.1 \pm 1.2$  pg/mL) και controls ( $11.1 \pm 1.8$  pg/mL.), p-value 0.566.

Παρομοίως ,τα επίπεδα της κορτιζόλης δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των cases και controls. Τα βασικά επίπεδα της κορτιζόλης , στον χρόνο -15, ήταν υψηλότερα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ( $13.5 \pm 1.2$  ng/mL) σε σχέση με τους controls (  $11.4 \pm 0.4$ ng/mL) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ( p-value 0.588). Στον χρόνο 15 λεπτά, τα επίπεδα της κορτιζόλης ήταν επίσης υψηλότερα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ( $15.9 \pm 0.9$  ng/mL) σε σχέση με τους controls (  $13.5 \pm 0.9$  ng/mL) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ( p-value 0.081).

Τα βασικά επίπεδα της ανδροστενεδιόνης , στον χρόνο -15 λεπτά, ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα των cases ( $2.4 \pm 0.3$  ng/mL) σε σύγκριση με την ομάδα των control ( $1.5 \pm 0.2$  ng/mL) , p-value 0.036. Ωστόσο, στους υπόλοιπους χρόνους και μετά την διέγερση με CRH δεν εμφανίστηκε καμία στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων της ανδροστενεδιόνης μεταξύ των cases και των controls. Χαρακτηριστικά, στον χρόνο 0, τα επίπεδα της , ανδροστενεδιόνης ήταν υψηλότερα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ( $2.0 \pm 0.2$  ng/mL) σε σχέση με τους controls ( $1.5 \pm 0.2$  ng/mL) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ( p-value 0.052).

Αναφορικά με τις υπόλοιπες μετρήσεις των ενδοκρινικών παραμέτρων, η στατιστική μας ανάλυση δεν ανέδειξε στατιστική σημαντική διαφορά για την τεστοστερόνη, με μέση τιμή  $2.0 \pm 0.3$  ng/mL στους cases σε σύγκριση  $2.2 \pm 0.8$  ng/mL, p- value 0.901. Η DHEAS εμφάνισε μέση τιμή  $149.2 \pm 17.6$  μg/ml στην ομάδα των cases σε σύγκριση με την ομάδα των control  $123.2 \pm 20.1$  μg/ml, p-value 0.750. Η DHEA εμφάνισε μέση τιμή  $7.4 \pm 0.7$  μg/ml στην ομάδα των cases σε σύγκριση με την ομάδα των control  $6.0 \pm 0.9$  μg/ml, p-value 0.353. Οι τιμές της TSH ήταν περίπου ίδιες στις δυο ομάδες, με τιμές  $1.4 \pm 0.2$  mIU/L με p-value 0.836. Η προλακτίνη εμφάνισε μέση τιμή  $7.2 \pm 0.8$  ng /ml στην ομάδα των cases σε σύγκριση με την ομάδα των control  $6.0 \pm 0.9$  ng /ml, p-value 0.879. Η LH εμφάνισε μέση τιμή  $6.4 \pm 1.4$  mUI/ ml στην ομάδα των cases σε σύγκριση με την ομάδα των control  $12.2 \pm 4.6$  mUI/ ml, p-value 0.480. Η FSH εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των φορέων της 21-υδροξυλάσης και της ομάδας των control. Η μέση τιμή της ήταν  $12.3 \pm 7.7$  mUI/ ml για την ομάδα των cases και  $16.1 \pm 6.0$  mUI/ ml για την ομάδα των controls με p-value 0.010. Η δεσμευτική σφαιρίνη της κορτιζόλης (CBG) κορτιζόλης ούρων δεν εμφάνισαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων. Η μέση τιμή της γλυκόζης και ινσουλίνης επίσης δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των cases και controls.

Η μέσες τιμές της κορτιζόλης σιέλου επίσης δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά και στους 5 χρόνους κατά την διάρκεια της ημέρας ( 8 π.μ., 12μ.μ, 4μ.μ, 8μ.μ, 12π.μ). Στον χρόνο 4 μμ η μέση τιμή της κορτιζόλης σιέλου στην ομάδα των φορέων της 21-υδροξυλάσης ήταν

υψηλότερη ( $0.4 \pm 0.1$  ng /ml) από την ομάδα των μαρτύρων ( $0.1 \pm 0$ ) χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά p value 0.067.

**Πίνακας 2.** Ενδοκρινολογικές παράμετροι μεταξύ φορέων 21-υδροξυλάσης και ομάδας μαρτύρων. Μέσες τιμές  $\pm$  τυπικές αποκλίσεις (SD).

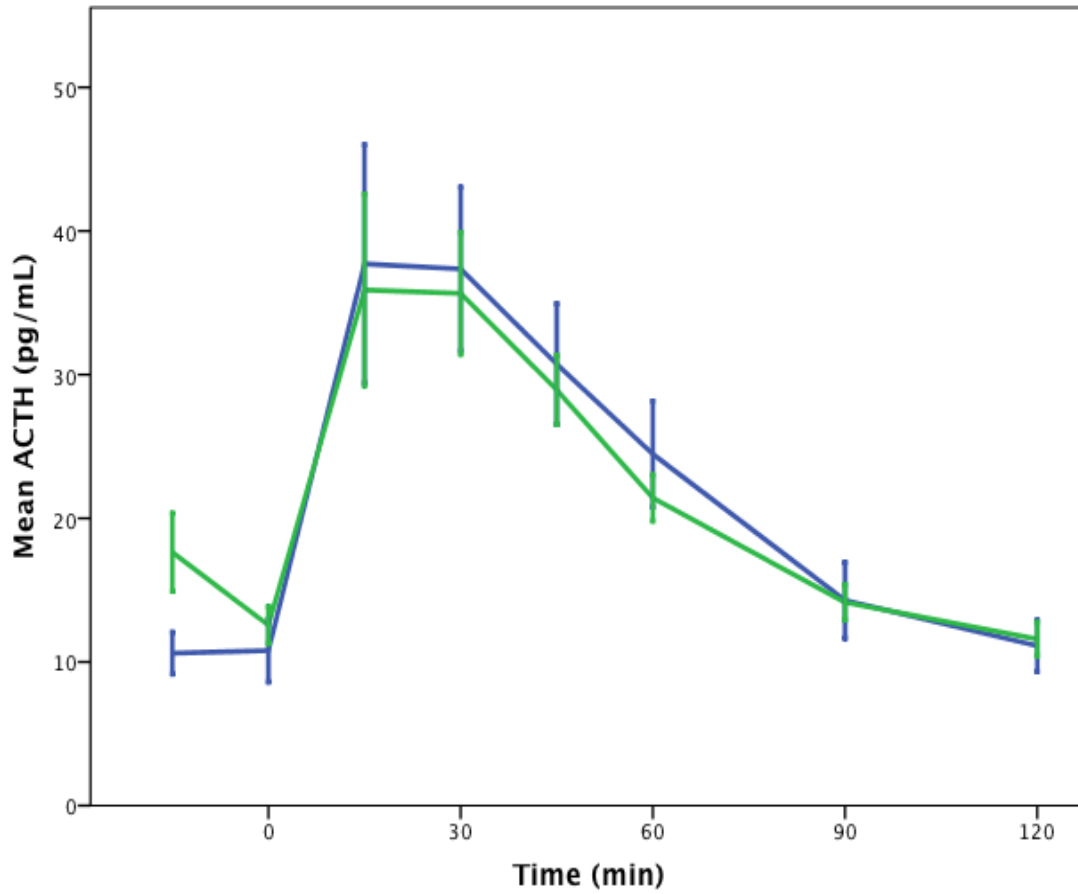
	Φορείς της 21-OHD (n=29)	Ομάδα μαρτύρων (n=13)	P-value*
<b>ACTH</b>			
-15 minutes	17.6 $\pm$ 2.7	10.1 $\pm$ 1.4	0.094
0 minutes	12.6 $\pm$ 1.3	9.1 $\pm$ 2.2	0.089
15 minutes	35.9 $\pm$ 6.6	37.7 $\pm$ 8.3	0.918
30 minutes	35.6 $\pm$ 4.2	37.4 $\pm$ 5.7	0.691
45 minutes	28.9 $\pm$ 2.4	30.7 $\pm$ 4.2	0.735
60 minutes	21.4 $\pm$ 1.6	24.5 $\pm$ 3.7	0.627
90 minutes	14.1 $\pm$ 1.2	14.3 $\pm$ 2.6	0.508
120 minutes	11.1 $\pm$ 1.2	11.1 $\pm$ 1.8	0.566
<b>17-OHP</b>			
-15 minutes	2.7 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.2	<b>0.001</b>
0 minutes	12.1 $\pm$ 9.7	1.4 $\pm$ 0.2	<b>0.003</b>
15 minutes	3.0 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.2	<b>0.004</b>
30 minutes	3.7 $\pm$ 0.6	1.8 $\pm$ 0.2	<b>0.001</b>
45 minutes	4.0 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.3	<b>&lt;0.0001</b>
60 minutes	3.3 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.3	<b>0.001</b>
90 minutes	2.6 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.2	<b>0.010</b>
120 minutes	2.4 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.2	<b>0.006</b>

Cortisol

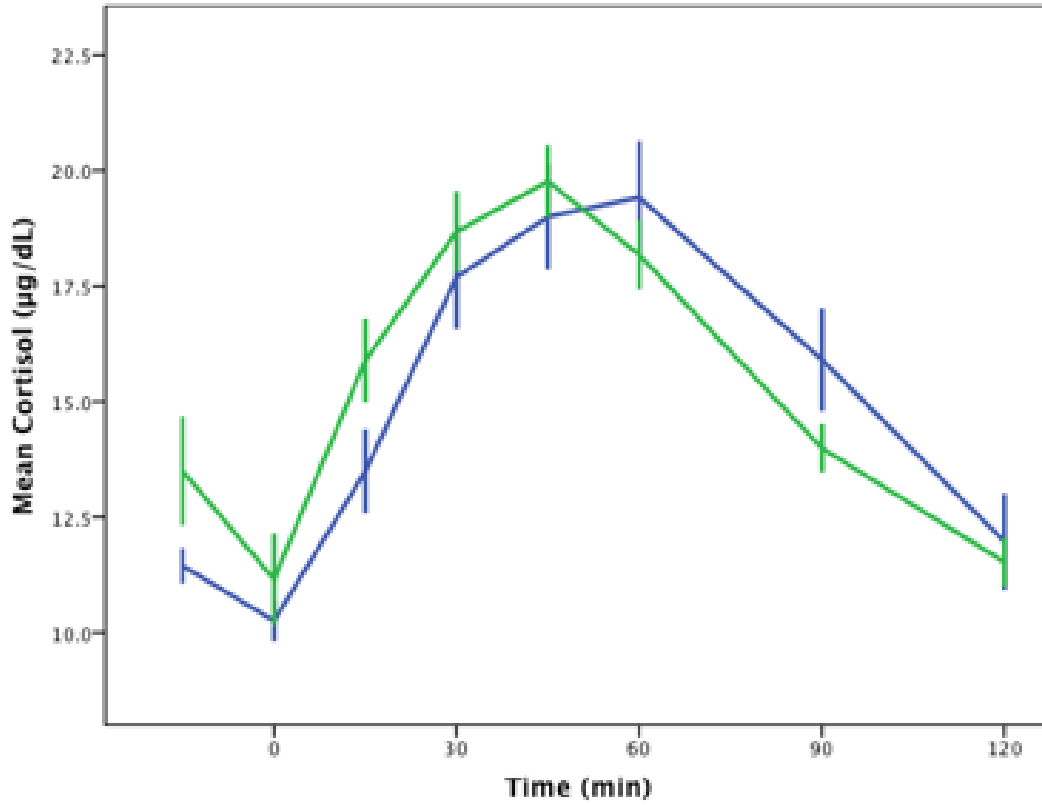
-15 minutes	13.5 ± 1.2	11.4 ± 0.4	0.588
0 minutes	11.2 ± 1.0	10.2 ± 0.4	0.955
15 minutes	15.9 ± 0.9	13.5 ± 0.9	0.081
30 minutes	18.7 ± 0.9	17.7 ± 1.1	0.586
45 minutes	19.8 ± 0.8	19.0 ± 1.1	0.607
60 minutes	18.2 ± 0.7	19.4 ± 1.2	0.489
90 minutes	14.0 ± 0.5	15.9 ± 1.1	0.134
120 minutes	11.1 ± 0.7	12.0 ± 1.0	0.988
Androstenedione			
-15 minutes	2.4 ± 0.3	1.5 ± 0.2	0.036
0 minutes	2.0 ± 0.2	1.5 ± 0.2	0.052
15 minutes	2.3 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.168
30 minutes	2.7 ± 0.2	2.2 ± 0.3	0.142
45 minutes	3.0 ± 0.2	2.3 ± 0.3	0.093
60 minutes	2.8 ± 0.2	2.4 ± 0.3	0.208
90 minutes	2.2 ± 0.1	2.0 ± 0.3	0.323
120 minutes	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.2	0.435
Testosterone	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.8	0.901
DHEAS	149.2 ± 17.6	123.2 ± 20.1	0.750
DHEA	7.4 ± 0.7	6.0 ± 0.9	0.353
TSH	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2	0.836
FT 30	5.2 ± 0.1	4.9 ± 0.2	0.226
FT 40	14.3 ± 0.4	14.4 ± 0.3	0.901
Prolactin	7.2 ± 0.8	6.8 ± 0.9	0.879
LH	6.4 ± 1.4	12.2 ± 4.6	0.480
FSH	12.3 ± 7.7	16.1 ± 6.0	0.010
CBG	51.9 ± 2.6	51.9 ± 3.4	0.913
Glucose	92.4 ± 2.6	92.5 ± 3.5	0.977

Insulin	$6.0 \pm 0.8$	$4.6 \pm 0.6$	0.146
Cortisol, Urine	$36.9 \pm 4.3$	$35.6 \pm 7.6$	0.874
Cortisol, Salivary			
8	$1.7 \pm 1.1$	$0.4 \pm 0.1$	0.130
12	$0.3 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.0$	0.652
16	$0.4 \pm 0.1$	$0.1 \pm 0.0$	0.067
20	$0.2 \pm 0.0$	$0.1 \pm 0.0$	0.587
24	$0.2 \pm 0.0$	$0.2 \pm 0.1$	0.691

---

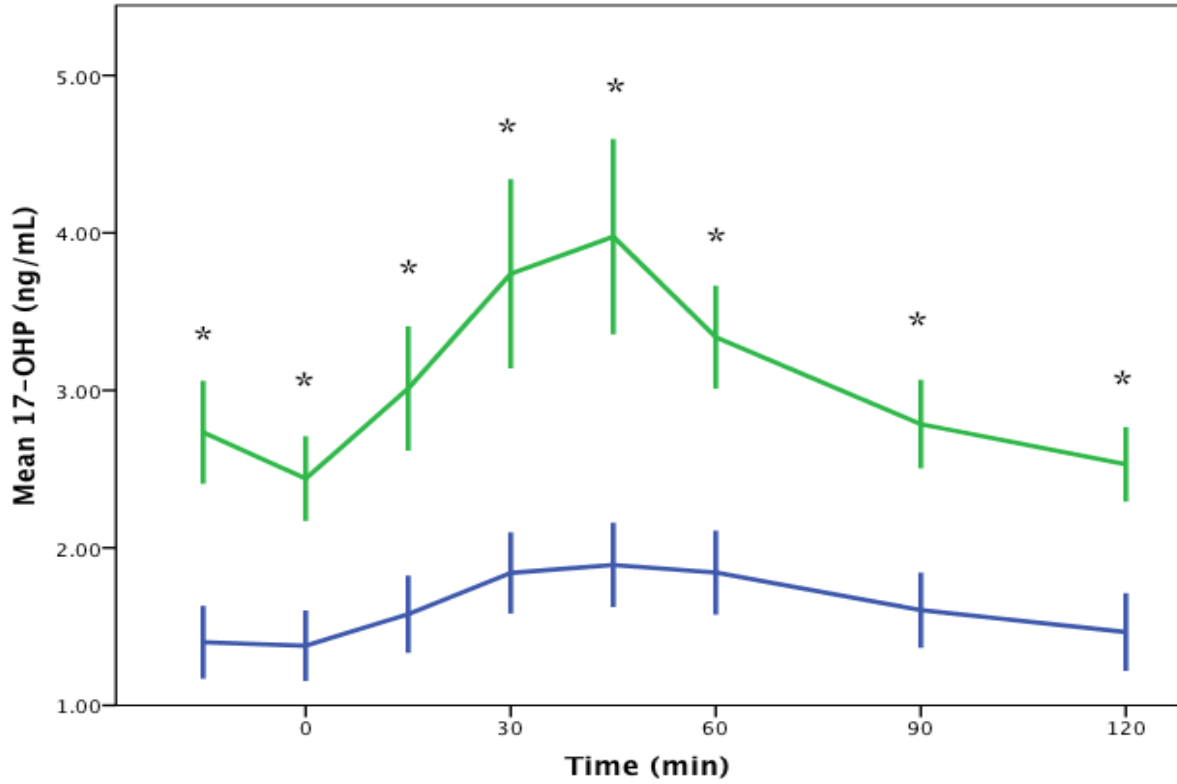


**Σχήμα 6:** Μέσες τιμές της ACTH σε σχέση με τον χρόνο κατά την πρόκληση με CRH. Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί στην ομάδα μαρτύρων και η πράσινη στους φορείς της 21-υδροξυλάσης.

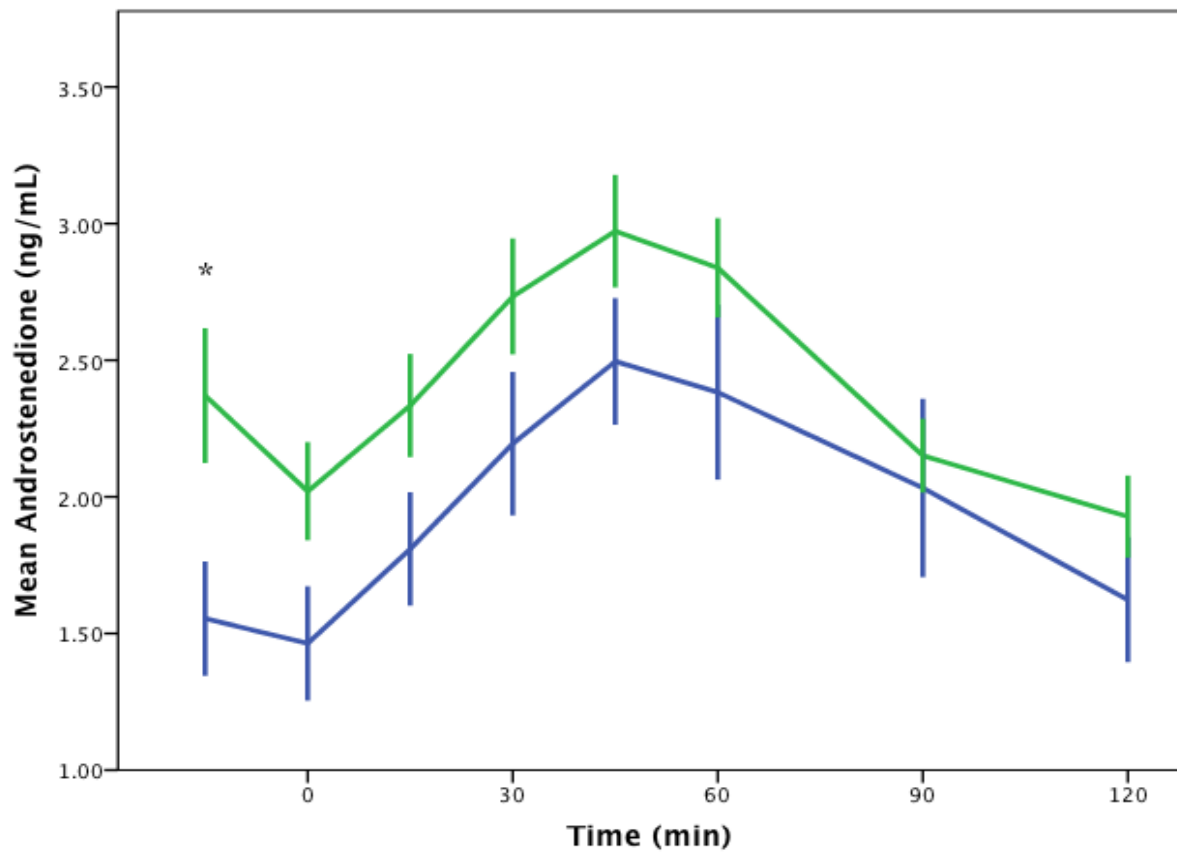


**Σχήμα 7:** Μέσες τιμές της κορτιζόλης σε σχέση με τον χρόνο κατά την πρόκληση με CRH. Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί στην ομάδα μαρτύρων και η πράσινη στους φορείς της 21-υδροξυλάσης.





**Σχήμα 8:** Μέσες τιμές της 17 OHP σε σχέση με τον χρόνο κατά την πρόκληση με CRH. Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί στην ομάδα μαρτύρων και η πράσινη στους φορείς της 21-υδροξυλάσης. Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.



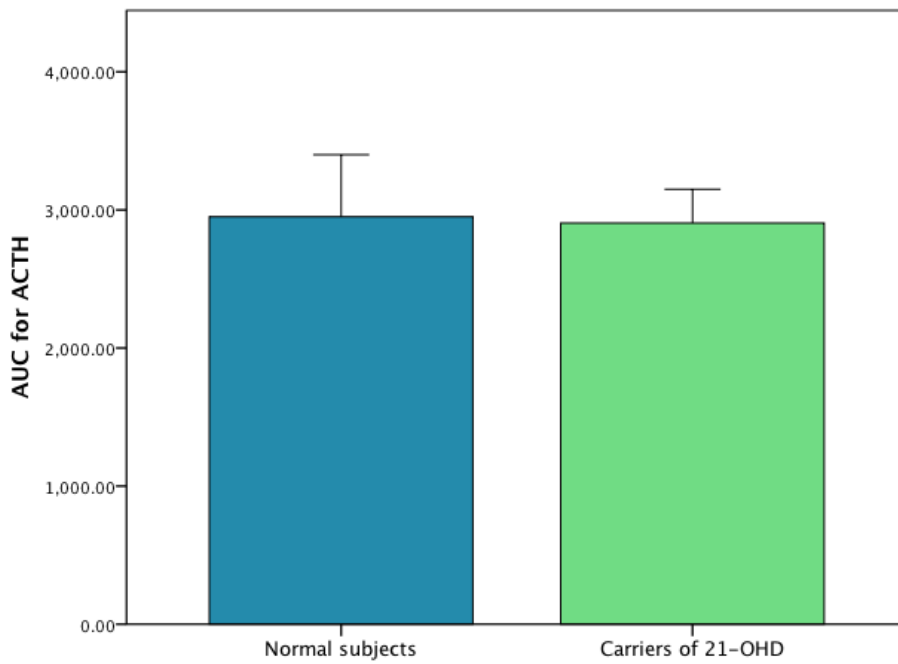
**Σχήμα 9:** Μέσες τιμές της ανδροστενεδιόνης σε σχέση με τον χρόνο κατά την πρόκληση με CRH. Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί στην ομάδα μαρτύρων και η πράσινη στους φορείς της 21-υδροξυλάσης.

Η ανάλυση της καμπύλης ROC ( Receiver operated curve ) για την μέτρηση του εμβαδού κάτω από την καμπύλη (AUC) επιβεβαίωσε την απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στα επίπεδα της ACTH, 17-OHP, ανδροστενεδιόνης και κορτιζόλης ορού και σιέλου. Αντίθετα, έδειξε πως οι τιμές της 17-OHP μεταξύ ομάδων μαρτύρων και φορέων παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά με p- value 0.003.

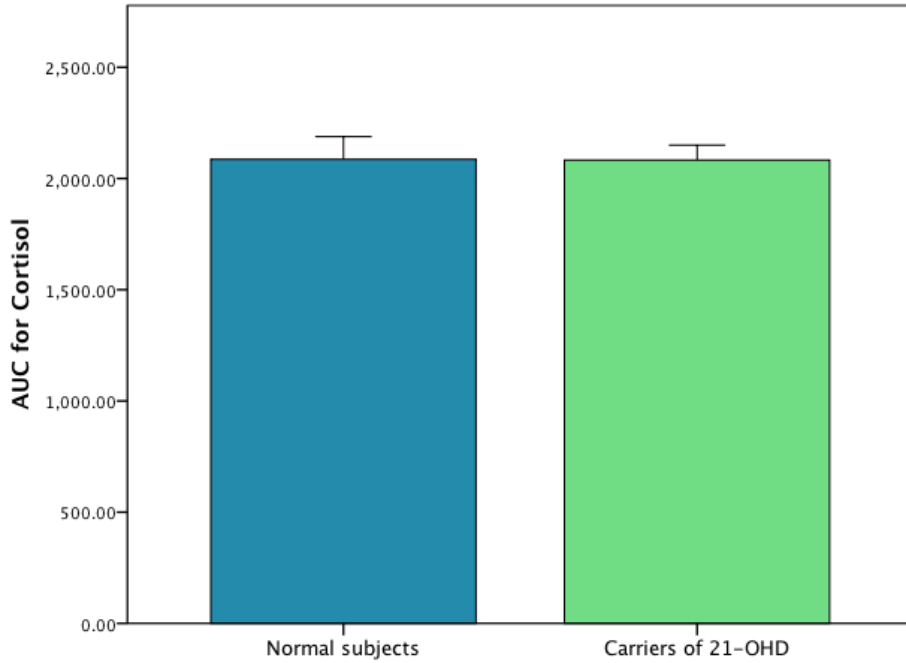
**Πίνακας 3.** Ανάλυση των καμπύλων ROC και του εμβαδού κάτω από την καμπύλη (AUC) για ενδοκρινολογικές παραμέτρους.

	Area Under the Curve (95% CI)	Standard Error (SEM)	P - value
ACTH	0.512 (0.301-0.723)	0.108	0.905
17-OHP	0.211 (0.059-0.363)	0.078	<b>0.003</b>
Ανδροστενεδιόνη	0.331 (0.157-0.506)	0.089	0.089
Κορτιζόλη			
Κορτιζόλη ορού	0.448 (0.252-0.645)	0.100	0.602
Κορτιζόλη σιέλου	0.263 (0.045-0.480)	0.111	0.117

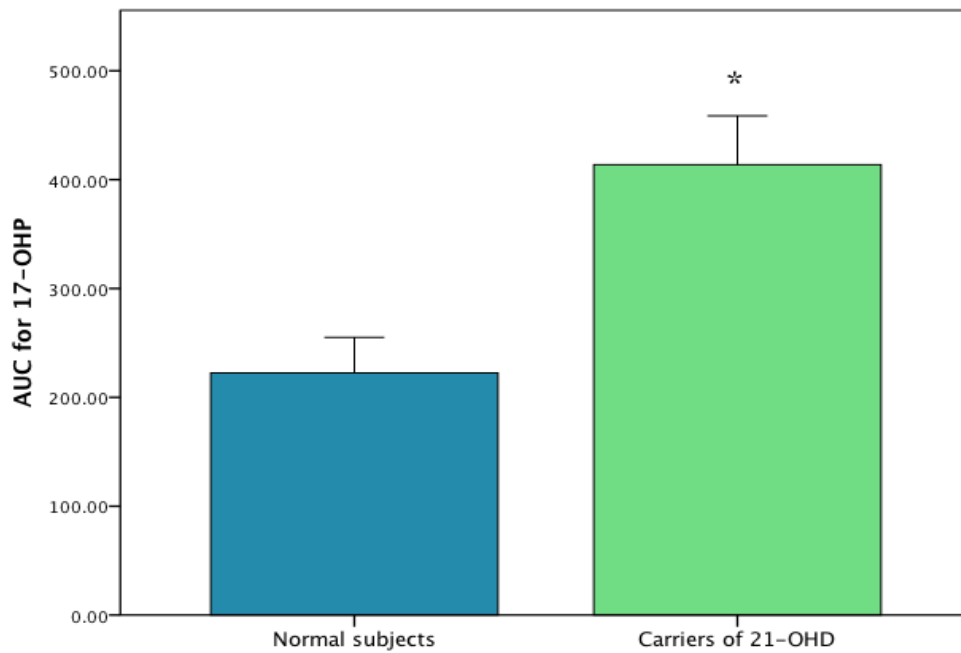
95% CI: 95% confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης), standard error (τυπικό λάθος)



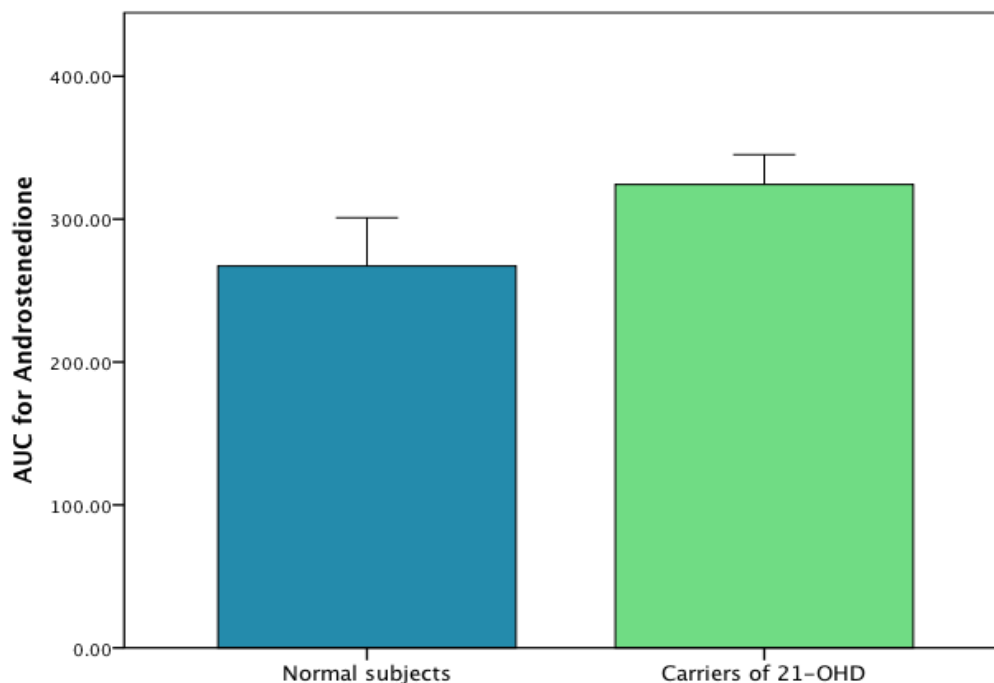
**Σχήμα 10:** AUC για την ACTH. Το error bar δείχνει το SE (standard error)



**Σχήμα 11:** AUC για την κορτιζόλη. Το error bar δείχνει το SE (standard error)



**Σχήμα 12:** AUC για την 17-OHP. Το error bar δείχνει το SE (standard error). Ο αστερίσκος δείχνει την σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.



**Σχήμα 13:** AUC για την ανδροστενεδιόνη. Το error bar δείχνει το SE (standard error)

Από την ανάλυση των ψυχομετρικών παραμέτρων μεταξύ των φορέων της 21- υδροξυλάσης και της ομάδας ελέγχου διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα αποτελέσματα του State Anxiety Inventory STAI1 μόνο στην κατηγορία που ανέλυε την παρουσία διαταραχών άγχους. Η μέση βαθμολογία στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ήταν 47.6 και στην ομάδα ελέγχου 43.4 με p-value 0.023. Παρ'ολ'αυτά άλλες κατηγορίες του ερωτηματολογίου STAI δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων. Στα ερωτηματολόγια Beck depression Inventory, Symptom Checklist-90R και Temperament and Character Inventory, δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των φορέων της 21-υδροξυλάσης και της ομάδας μαρτύρων.

Ενδεικτικά, στο ερωτηματολόγιο Beck depression Inventory, το συνολικό αριθμητικό σύνολο της ομάδας μαρτύρων ήταν 8.4 , μεγαλύτερο σε απόλυτη τιμή από 7.7 της ομάδας των φορέων, χωρίς βέβαια η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Αναλόγως, το συγκεντρωτικό αριθμητικό αποτέλεσμα στο Symptom Checklist-90R ερωτηματολόγιο, ήταν επίσης μεγαλύτερο στην ομάδα ελέγχου ( $67.8 \pm 7.8$ ) συγκριτικά με την ομάδα των φορέων της 21-υδροξυλάσης ( $61.1 \pm 7.7$ ) χωρίς ωστόσο η διαφορά αυτή να είναι σημαντική. Στο Temperament and Character Inventory διαπιστώνουμε μεγαλύτερη συγκεντρωτική βαθμολογία στις περισσότερες παραμέτρους στην ομάδα μαρτύρων αλλά η διαφορά με την ομάδα των φορέων δεν φτάνει σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο.

Στο POMS ερωτηματολόγιο παρατηρήσαμε τις σημαντικότερες διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων. Χαρακτηριστικά, οι φορείς της 21-υδροξυλάσης, εμφάνισαν υψηλότερα επίπεδα κατάθλιψης- κατήφειας, θυμού- εχθρικότητας, σύγχυσης- αμηχανίας ενώ είχαν χαμηλότερη βαθμολογία στην εκτίμηση ύπαρξης ενέργειας και ζωτικότητας. Σε ερωτήσεις που αφορούσαν την αξιολόγηση της έντασης-άγχους και κόπωσης- αδράνειας δεν παρουσιάστηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων. Το συνολικό αποτέλεσμα του POMS ερωτηματολογίου ήταν 35 για την ομάδα των φορέων και 19.5 για την ομάδα ελέγχου, με p- value 0.010.

**Πίνακας 4.** Σύγκριση των ψυχομετρικών παραμέτρων μεταξύ των φορέων της 21 υδροξυλάσης και των controls

<b>Variable</b>	<b>Controls Median (min, max)</b>	<b>Carriers Median (min, max)</b>	<b>p-value</b>
STAI			
STAI 1	43.0 (36.0, 55.0)	49.0 (36.0, 59.0)	0.027
STAI 2	46.5 (45.0, 59.0)	50.0 (37.0, 55.0)	0.392
Total STAI score	89.5 (81.0, 114.0)	97.0 (79.0, 110.0)	0.049
POMS			
Tension-anxiety	17.5 (8.0, 28.0)	14.0 (8.0, 24.0)	0.165
Depression-dejection	8.5 (2.0, 38.0)	3.5 (0.0, 15.0)	0.014
Anger-hostility	11.5 (2.0, 28.0)	6.0 (2.0, 20.0)	0.019
Vigor-activity	15.0 (3.0, 30.0)	21.0 (7.0, 32.0)	0.030
Fatigue-inertia	9.0 (0.0, 18.0)	5.0 (0.0, 20.0)	0.130
Confusion-bewilderment	10.5 (7.0, 20.0)	7.5 (4.0, 14.0)	0.022
Total POMS score	35.0 (1.0, 119.0)	19.5 (-8.0, 119.0)	0.010
SCL90R			
Somatization	8.0 (1.0, 13.0)	5.0 (0.0, 34.0)	0.697
Obsessive-compulsive	13.0 (5.0, 23.0)	8.0 (3.0, 24.0)	0.115
Interpersonal sensitivity	6.5 (4.0, 12.0)	6.0 (0.0, 21.0)	0.541
Depression	14.5 (3.0, 33.0)	9.0 (0.0, 36.0)	0.062
Anxiety	8.0 (2.0, 13.0)	5.0 (1.0, 18.0)	0.616
Hostility	3.5 (1.0, 14.0)	3.0 (0.0, 18.0)	0.668
Phobic anxiety	0.5 (0.0, 5.0)	1.0 (0.0, 16.0)	0.292
Paranoid ideation	5.0 (2.0, 13.0)	5.0 (0.0, 15.0)	0.820
Psychoticism	3.0 (0.0, 8.0)	2.0 (0.0, 10.0)	0.590
Additional items	4.0 (1.0, 11.0)	4.0 (0.0, 16.0)	0.935
Grand score	70.0 (27.0, 110.0)	62.0 (18.0, 174.0)	0.330
TCI			
Novelty seeking	19.5 (12.0, 25.0)	18.0 (12.0, 26.0)	0.213
Harm avoidance	21.5 (15.0, 28.0)	18.5 (11.0, 28.0)	0.065
Reward dependence	9.5 (5.0, 16.0)	10.0 (6.0, 18.0)	0.442
Persistence	4.0 (1.0, 6.0)	4.0 (2.0, 7.0)	0.845
Self-directedness	22.0 (10.0, 28.0)	23.5 (11.0, 33.0)	0.251
Cooperativeness	17.5 (12.0, 22.0)	17.5 (13.0, 25.0)	0.397
Self-transcendence	16.0 (10.0, 26.0)	17.0 (9.0, 26.0)	0.881



Σε γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) που πραγματοποιήσαμε για την ανεύρεση συσχέτισης μεταξύ ορμονικών μετρήσεων και ψυχομετρικών παραμέτρων, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική σχέση στο σύνολο των ασθενών αλλά και στους φορείς της 21-υδροξυλάσης. Στην γραμμική παλινδρόμηση, τοποθετήσαμε ως εξαρτημένη μεταβλητή, τα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου STAI2 και των επιμέρους κατηγοριών του.

**Πίνακας 5:** Γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) μεταξύ ανεξάρτητων μεταβλητών ορμονικών παραμέτρων και εξαρτημένων μεταβλητών ψυχομετρικών παραμέτρων στο σύνολο των ασθενών.

<b>Dependent variable</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Beta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
STAI2	Peak 17-OHP	-0.066	-0.027	0.709
	Peak cortisol	0.237	0.027	0.177
Obsessive-compulsive	Mean 24-h UFC	0.065	-0.033	0.738
Interpersonal sensitivity	Peak 17-OHP	0.082	-0.024	0.643
Anxiety	AUC of 17-OHP	0.005	-0.031	0.978
Hostility	Peak 17-OHP	0.017	-0.031	0.925
Novelty seeking	Mean 24-h UFC	-0.056	-0.034	0.771
Harm avoidance	Peak ACTH	0.039	-0.031	0.829
Reward dependence	Mean 24-h UFC	-0.055	-0.034	0.776

**Πίνακας 6:** Γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) μεταξύ ανεξάρτητων μεταβλητών ορμονικών παραμέτρων και εξαρτημένων μεταβλητών ψυχομετρικών παραμέτρων στους φορείς της 21- υδροξυλάσης.

<b>Dependent variable</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Beta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
STAI2	Peak 17-OHP	0.121	-0.035	0.592
	Peak cortisol	0.214	-0.002	0.339
Obsessive-compulsive	Mean 24-h UFC	0.120	-0.037	0.605
Interpersonal sensitivity	Peak 17-OHP	0.119	-0.033	0.587
Anxiety	AUC of 17-OHP	-0.010	-0.048	0.964
Hostility	Peak 17-OHP	-0.020	-0.047	0.927
Novelty seeking	Mean 24-h UFC	0.026	-0.052	0.911
Harm avoidance	Peak ACTH	-0.047	-0.048	0.835
Reward dependence	Mean 24-h UFC	-0.058	-0.049	0.804

**Πίνακας 7:** Γραμμική παλινδρόμηση (linear regression) μεταξύ ανεξάρτητων μεταβλητών ορμονικών παραμέτρων και εξαρτημένων μεταβλητών ψυχομετρικών παραμέτρων στην ομάδα μαρτύρων.

<b>Dependent variable</b>	<b>Independent variables</b>	<b>Beta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
Tension-anxiety	Mean 24-h UFC	-0.096	-0.156	0.822
Depression-dejection	AUC of cortisol	0.008	-0.111	0.982
Vigor-activity	AUC of cortisol	-0.042	-0.109	0.903
Fatigue-inertia	AUC of cortisol	-0.124	-0.094	0.717
Confusion-bewilderment	AUC of ACTH	0.162	-0.082	0.635
	Peak ACTH	0.151	-0.086	0.658
Phobic anxiety	Mean 24-h UFC	0.255	-0.091	0.543
Paranoid ideation	Mean 24-h UFC	0.263	-0.086	0.530
	Peak cortisol	0.604	0.294	0.049

Στον παραπάνω πίνακα αναγράφονται τα αποτελέσματα της γραμμικής παλινδρόμησης μεταξύ ψυχομετρικών παραμέτρων και ορμονικών μετρήσεων στην ομάδα ελέγχου με μόνη στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του παρανοϊκού ιδεασμού και τον μέγιστων τιμών κορτιζόλης με p-value 0.049.

## 24. Συμπέρασμα

Η Συγγενής Υπερπλασία των Επινεφριδίων αποτελεί μια αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσο που επηρεάζει την βιοσύνθεση της κορτιζόλης και οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο *CYP21A2* υπεύθυνο για την ενζυματική δράση της 21 υδροξυλάσης. Η ΣΥΕ παρουσιάζει πολλαπλούς φαινότυπους ανάλογα με τα αλληλόμορφα του γονιδίου. Η κλασική μορφή, εμφανίζεται με συχνότητα 1 σε 14000 με 1 σε 18000, είναι η πιο σοβαρή μορφή που διαγιγνώσκεται στην νεογνική περίοδο. Στην κλασική ‘ με απώλεια άλατος’ μορφή, απουσιάζει ή είναι ελάχιστη η ενζυματική δραστηριότητα της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης με αποτέλεσμα να υπάρχει ανεπάρκεια της κορτιζόλης και της αλδοστερόνης. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε απουσία της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στον άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης- επινεφριδίων με συνέπεια την υπερπαραγωγή προδρόμων ουσιών των ανδρογόνων και των κλινικών εκδηλώσεων της υπονατρίαμια, υπερκαλιαιμίας, της οξέωσης και ακόμα και του σοκ. Η υπερανδογοναιμία με την σειρά της προκαλεί αρρενοποίηση των εξωτερικών γεννητικών οργάνων των θήλεων ασθενών με υπερτροφία της κλειτορίδας και την σύμφυση των χειλέων που δύναται να μοιάζουν με γεννητικά όργανα άρρενος. Αντίθετα τα έξω γεννητικά όργανα των αρρένων ασθενών είναι φυσιολογικά. Επιπρόσθετα η υπερέκκριση ανδρογόνων επιταχύνει την σωματική αύξηση, την ωρίμανση του σκελετού με αποτέλεσμα χαμηλότερο τελικό ύψος στους ασθενείς. Παράλληλα, τα κορίτσια με κλασική ΣΥΕ, παρουσιάζουν κεντρική πρόωμη ήβη με ακμή, υπερτρίχωση, διαταραχές της έμμηνου ρύσης και της γονιμότητας. Τα αγόρια με ΣΥΕ, δύναται να εμφανίσουν μικρού μεγέθους όρχεις και καλοήθεις όγκους των όρχεων.

Στην μη κλασική μορφή, της οποίας η συχνότητα ανέρχεται σε 1:500 με 1:1000, υπάρχει ενζυματική δραστηριότητα της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης αλλά περιορισμένη, με αποτέλεσμα οι ασθενείς να εμφανίζουν φυσιολογικά επίπεδα κορτιζόλης και αλδοστερόνης αλλά ελαφρώς αυξημένα επίπεδα ανδρογόνων. Οι ασθενείς παρουσιάζουν πρόωμη αδρεναρχή, ακμή, επιτάχυνση του ρυθμού ανάπτυξης και συγκεκριμένα οι έφηβες ασθενείς εμφανίζουν υπερτρίχωση, ολιγομηνόρροια και υπογονιμότητα.

Η διάγνωση της ΣΥΕ επιτυγχάνεται αρχικά μέσα από τον νεογνικό έλεγχο που εφαρμόζεται σε όλες τις πολιτείες των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής καθώς σε και 35 άλλες χώρες όπως η Σουηδία, η Γαλλία, η Γερμανία, η Κίνα, η Βραζιλία. Με τον νεογνικό έλεγχο επιτυγχάνεται η άμεση παρέμβαση σε περιπτώσεις κλασσικής μορφής ΣΥΕ και η πρόληψη επινεφριδιακών κρίσεων. Εναλλακτικά, η διάγνωση επιτυγχάνεται με την μέτρηση της 17OHP που αποτελεί περισσότερο ένα αρχικό screening εξαιτίας της χαμηλής positive predictive value. Η ειδικότητα των διαγνωστικών εξετάσεων αυξάνεται με την μέτρηση των πρόδρομων ουσιών όπως η 11-δεοξυκορτιζόλη, η ανδροστενεδιόνη, 21 δεοξυκορτιζόλη. Συμπληρωματικά, μπορεί να πραγματοποιηθεί και γονιδιακός έλεγχος για τις μεταλλάξεις του γονιδίου CYP21A2.

Η θεραπεία της κλασσικής μορφής της ΣΥΕ έχει στόχο να αναπληρώσει τα γλυκοκορτικοειδή και τα αλατικοκορτικοειδή έτσι ώστε να αποτρέψει την επινεφριδιακή κρίση και να μειώσει την υπερέκκριση της κορτικοτροπίνης που οδηγεί με την σειρά της σε υπερπαραγωγή ανδρογόνων. Κλινικά, σημαντική είναι η φυσιολογική ανάπτυξη των ασθενών και η σταδιακή ωρίμανση από την βρεφική ηλικία μέχρι την εφηβεία, καθώς και η πρόληψη της αρρενοποίησης των δευτερευόντων χαρακτηριστικών του φύλου των θήλεων ασθενών. Στην μη κλασσική μορφή της ΣΥΕ, η θεραπεία εξατομικεύεται με βάση την κλινική συμπτωματολογία καθώς δεν υπάρχουν συγκεκριμένες ομοφωνίες. Ωστόσο, δεν συστήνεται η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών σε ασυμπτωματικούς ασθενείς. Καινοτόμες θεραπείες περιλαμβάνουν πλέον, την abiraterone acetate που αποτελεί ένα αναστολέα της CYP17A1 αλλά και ανταγωνιστές της CRHR1 όπως οι tildacerfont και crinecerfont. Η γονιδιακή θεραπεία μέσω vector αδενοϊού βρίσκεται σε ερευνητικό επίπεδο σε animal models.

Εκτός από τους ασθενείς με ΣΥΕ, πολύ νωρίς από την δεκαετία του 1970, υπήρξε επιστημονικό ενδιαφέρον και για τους φορείς της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης καθώς αρκετές μελέτες αποδείκνυαν πως εμφανίζουν μεγαλύτερη έκκριση 17 υδροξυπρογεστερόνης, προγεστερόνης, 21 δεοξυκορτιζόλης και χαμηλότερα επίπεδα 11 δεοξυκορτικοστερόνης και αλδοστερόνης μετά από χορήγηση ACTH σε σχέση με υγιή άτομα. Τα παραπάνω δεδομένα, οδηγούσαν στο συμπέρασμα

πως ακόμα και οι φορείς της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης δύναται να εμφανίζουν διαταραχές στον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης- επινεφριδίων με αναμενόμενες κλινικές συνέπειες που έρχηζαν περαιτέρω διερεύνησης, δεδομένου και της υψηλής συχνότητας των ετεροζυγωτών της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης με επιδημιολογικές μελέτες να την υπολογίζουν σε 1:10 με 1:60 αναλόγως τον πληθυσμό.

Αρχικά, οι μελέτες που εξέτασαν την απαντητικότητα του άξονα ΥΥΕ, μέσω της πρόκλησης με ACTH σε φορείς της ανεπάρκειας 21 υδροξυλάσης, δεν βρήκαν διαφορά μεταξύ των φορέων και της ομάδας ελέγχου. Ωστόσο, δεν είχε πραγματοποιηθεί ταυτοποίηση των μεταλλάξεων με πιθανή την ύπαρξη φορέων ανάμεσα στον πληθυσμό ελέγχου και τα αντιδραστήρια για την μέτρηση της κορτιζόλης δεν εμφάνιζαν μεγάλη ευαισθησία. Ωστόσο, ο Witchell και οι συνεργάτες του, το 1997, μελέτησαν 28 φορείς και 22 controls, με επιβεβαιωμένο γονιδιακό προφίλ, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε ACTH τεστ. Στην μελέτη αυτή, παρατηρήθηκε πως οι φορείς της ανεπάρκειας της 21 υδροξυλάσης εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Σε ανάλογες μελέτες διαπιστώθηκε πως οι φορείς της ανεπάρκειας της 21-OH έχουν αυξημένη έκκριση πρόδρομων ουσιών της κορτιζόλης, συμπεριλαμβανομένου της 17 υδροξυπρογεστερόνης, και χαμηλότερα επίπεδα 11 δεοξυκορτικοστερόνης και αλδοστερόνης μετά από χορήγηση ACTH σε σχέση με υγιή άτομα. Σε ένα 50-80% των φορέων της ανεπάρκειας της 21 OH , τα επίπεδα της 17-OHP μετά από χορήγηση ACTH βρίσκονται στην 95η θέση σε σύγκριση με το πληθυσμό ελέγχου, γεγονός που δημιουργεί την υποψία πως, οι ετεροζυγώτες της ΣΥΕ, εμφανίζουν ήπια διαταραχή στην σύνθεση της κορτιζόλης και αντιρροπιστική αύξηση της CRH από τον υποθάλαμο.

Με την σειρά της, η CRH, η βασική ορμόνη του υποθαλάμου που ρυθμίζει τον άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης-επινεφριδίων, παίζει καθοριστικό ρόλο στην απάντηση στο στρες, με επιπτώσεις όχι μόνο σε επίπεδο ορμονικό αλλά και στα πλαίσια του αυτόνομου νευρικού συστήματος, του ανοσοποιητικού συστήματος και της ψυχοσύνθεσης. Η CRH κατανέμεται και εκτός του υποθαλάμου όπου δρα σαν νευρορυθμιστής για να συντονίσει σύνθετες ανταποκρίσεις στο στρες σε πολλαπλά επίπεδα. Οι διαταραχές στην έκκριση της CRH έχουν συσχετιστεί με νευροενδοκρινολογικές και συναισθηματικές διαταραχές όπως είναι το άγχος και η κατάθλιψη.

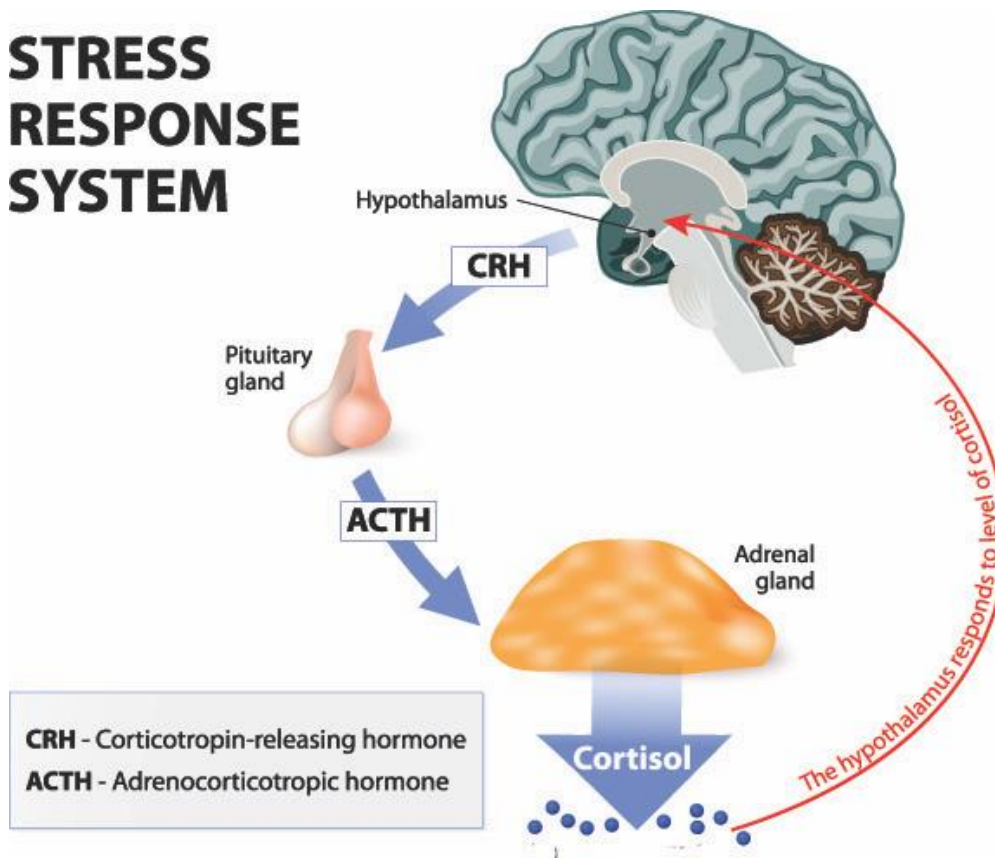
Αρκετές μελέτες έχουν δείξει αυξημένη έκφραση της CRH στον υποθάλαμο, στους πυρήνες ραφής, στον υπομέλα τόπο και στο πρόσθιο φλοιό ασθενών με κατάθλιψη και αυτοκτονικό ιδεασμό. Σε αντίθεση, το εύρημα ότι η έκφραση των υποδοχέων της CRH είναι περιορισμένη σε ασθενείς με κατάθλιψη, αποτελεί ένδειξη πως υψηλότερα επίπεδα CRH πρέπει να ευθύνονται για το downregulation της έκφρασης των CRH υποδοχέων. Παράλληλα η αύξηση της έκκρισης της CRH και κατά συνέπεια της αύξησης των ορμονών του στρες στο αίμα θεωρείται βασικής σημασίας στην παθοφυσιολογία του άγχους. Επιπρόσθετα, η CRH φαίνεται πως παίζει σημαντικό ρόλο στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που ευθύνονται για την εμφάνιση εθισμών, όπως ο αλκοολισμός.

Εκτός από την επίδραση της CRH σε ψυχιατρικές παθήσεις και συναισθηματικές διαταραχές, σημαντική είναι και η συμμετοχή της σε ανοσολογικές διαταραχές, άμεσα και έμμεσα. Η CRH δύναται να κάνει downregulate την φλεγμονή μέσω την έκκρισης γλυκοκορτικοειδών αλλά και να έχει άμεση αντιφλεγμονώδη δράση στους ιστούς, μέσω της αποκοκκίωσης των μαστοκυττάρων, την NO- αγγειοδιαστολή, τον πολλαπλασιασμό των λευκοκυττάρων και την απελευθέρωση κυτοκινών.

Στο γαστρεντερικό σύστημα, έχει διαπιστωθεί πως η έκκριση της CRH ως απόκριση στο στρες, αυξάνει την διαπερατικότητα του εντερικού επιθηλίου και διαταράσσει την λειτουργικότητα του ενώ στο αναπαραγωγικό σύστημα σχετίζεται με πρόωρο τοκετό και προ εκλαμψία. Η CRH που δρα στις ωοθήκες συμμετέχει στην ωρίμανση του ωοθυλακίου, την ωορρηξία και την λουτεόλυση.

Συνεπώς είναι κατανοητό, πως η αυξημένη δράση στο άξονα ΥΥΕ και κατά συνέπεια η υπερέκκριση της CRH σχετίζεται με πολλαπλές συναισθηματικές διαταραχές όπως είναι η αγχώδης διαταραχή, η κατάθλιψη, οι κρίσεις πανικού, η ανορεξία, ο ψυχαναγκασμός και ο αλκοολισμός. Η ανάπτυξη και η σοβαρότητα των καταστάσεων αυτών εξαρτάται από την γενετική προδιάθεση, την έκθεση σε στρεσογόνους περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά και την χρονική εμφάνιση αυτών, καθώς, η εμβρυική και η βρεφική ζωή, η παιδική ηλικία και η εφηβεία είναι κρίσιμες περιόδους με ευαλωτότητα στο στρες.<sup>91</sup>

# STRESS RESPONSE SYSTEM



Σχήμα 14: Σχηματική απεικόνιση της ενεργοποίησης του άξονα ΥΥΕ στο στρες.

Στην μελέτη μας, στόχος μας ήταν να εξετάσουμε το ενδοκρινολογικό και ψυχολογικό προφίλ των φορέων της ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης στα πλαίσια της ήδη περιγεγραμμένης υπερέκκρισης της CRH και προδρόμων ουσιών της κορτιζόλης μετά από διέγερση με ACTH και την σύγκριση με υγιή ομάδα ελέγχου. Η έρευνα μας ανέδειξε πως οι φορείς της CAH λόγω της ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης είχαν σημαντικά υψηλότερες ανώτατες, μέσες και AUC συγκεντρώσεις 17-0HP σε απάντηση με διέγερση με CRH αλλά και υψηλότερη βαθμολογία στο State Anxiety ( STAI 1) σε σύγκριση με την υγιή ομάδα ελέγχου. Παράλληλα, οι υψηλότερες αν



και όχι στατιστικά σημαντικές μέσες τιμές της ACTH σε χρόνους αναφοράς, αντικατοπτρίζουν την ίδια κατάσταση ήπια χρόνιας ACTH υπερέκκρισης.

Επιπρόσθετα, παρατηρήσαμε πως οι μέσες συγκεντρώσεις 24ώρης συλλογής UFC σχετίζονται με παρανοϊκό ιδεασμό και ψυχωτισμό ενώ οι ανώτατες τιμές 17-0HP ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας στο STAI 1 score. Τα παραπάνω ευρήματα, δύναται να υποδεικνύουν μια υπερλειτουργία του άξονα ΥΥΕ που κάτω από την επίδραση στρεσογόνων ερεθισμάτων μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη συναισθηματικών διαταραχών.

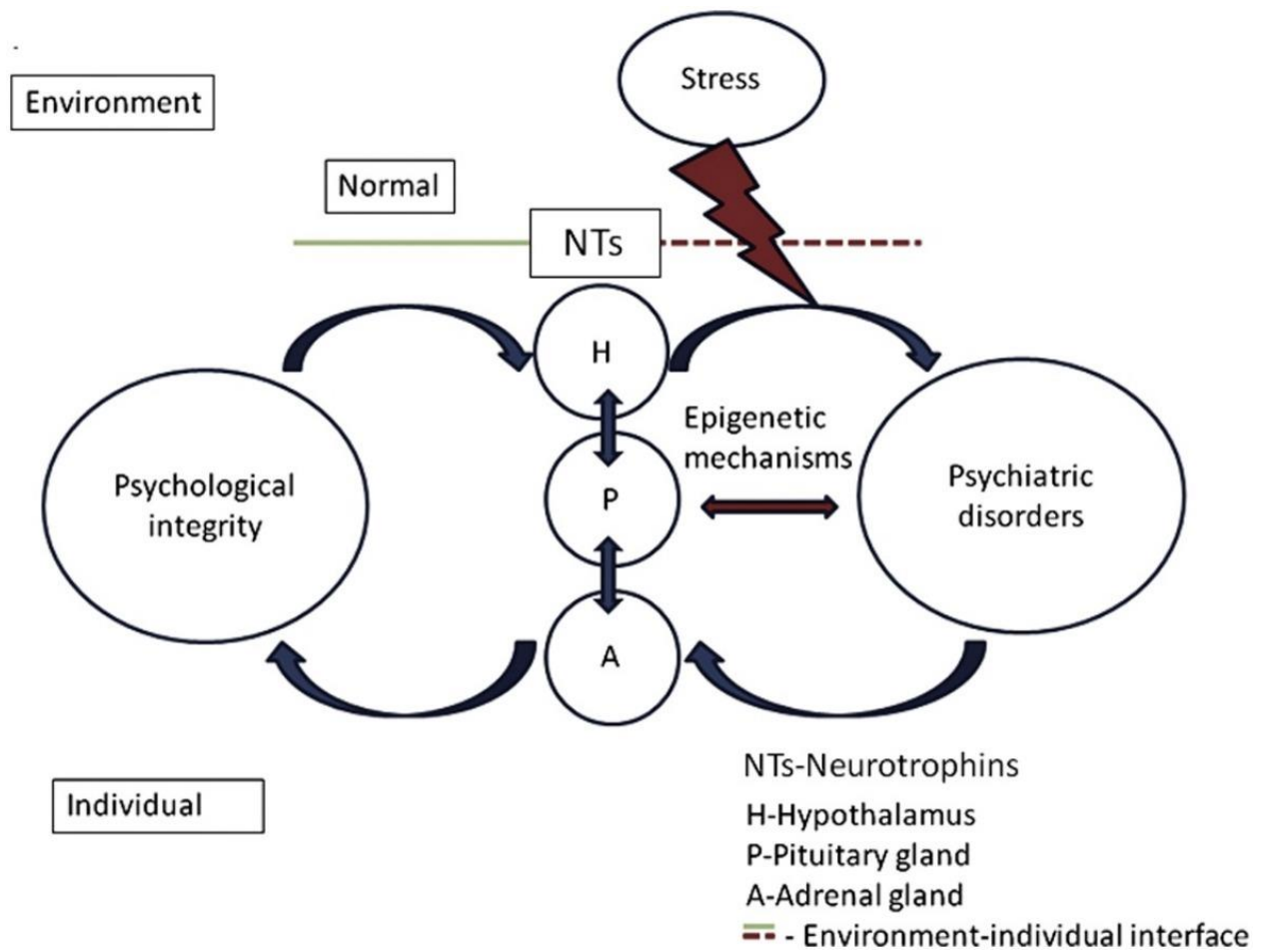
Σαν ομάδα ελέγχου, στην μελέτη μας, συμπεριλήφθηκαν γονείς παιδιών με σύνδρομο Turner και υποθυρεοειδισμό. Ο υποθυρεοειδισμός αποτελεί την πιο συχνή ενδοκρινολογική πάθηση και χωρίς θεραπεία οδηγεί σε σοβαρές επιπλοκές όπως, δυσλιπιδαιμία, ψυχοκινητική καθυστέρηση, υπογονιμότητα και καρδιαγγειακά προβλήματα. Το σύνδρομο Turner είναι μια γενετική πάθηση, με σοβαρή συμπαραμαρτούσα παθολογία, όπως ενδοκρινολογικές και καρδιολογικές διαταραχές και αναπτυξιολογικά προβλήματα. Συνεπώς, οι γονείς των παιδιών με σύνδρομο Turner και υποθυρεοειδισμό, επιλέχτηκαν με κριτήριο την ψυχολογική και συναισθηματική επίδραση που έχει η ανατροφή ενός παιδιού με χρόνιο ενδοκρινολογικό νόσημα.

Όπως προαναφέρθηκε, πληθώρα κλινικών και πειραματικών δεδομένων, προτείνουν πως η CRH και η AVP συμμετέχουν στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς ανάπτυξης συναισθηματικών διαταραχών και άγχους. Σε τρωκτικά, η έγχυση CRH στις κοιλίες του εγκεφάλου, αυξάνει την υπερένταση, το άγχος και το φόβο και μειώνει την όρεξη και την κοινωνικότητα. Παράλληλα, πολυμορφισμοί σε μονά νουκλεοτίδια (single-nucleotide polymorphisms -SNPs) σε γονίδια που κωδικοποιούν τα CRH, CRH-1R, CRH-2R και CRH-binding protein δύναται να σχετίζονται με αυξημένη ευαισθησία στην ανάπτυξη ψυχιατρικών διαταραχών και μπορεί να κατευθύνουν την απάντηση στην θεραπεία με αντικαταθλιπτικά. Σύγχρονες μελέτες, ερευνούν την θεραπεία της αγχώδους διαταραχής και της κατάθλιψης με ανταγωνιστές των υποδοχέων τύπου 1 CRH, όπως η ανταλαρμίνη. Επιπρόσθετα, η AVP, έχει συσχετιστεί με την επιδείνωση διαταραχών του στρες και την κατάθλιψη.

Οι συναισθηματικές διαταραχές είναι ένα σύνολο ψυχιατρικών νοσημάτων που μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την ποιότητα ζωής και συμπεριλαμβάνουν τις φοβίες, το μετατραυματικό στρες, τον ψυχαναγκασμό, τις κρίσεις πανικού και την γενικευμένη αγχώδη διαταραχή. Σε ασθενείς με συναισθηματικές διαταραχές έχει διαπιστωθεί υπεραντιδραστικότητα του άξονα ΥΥΕ μετά από έκθεση σε ψυχοκοινωνικούς παράγοντες ενώ ασθενείς με μετατραυματικό στρες παρουσιάζουν υπολειτουργικό άξονα ΥΥΕ αν και έχουν υψηλότερη συγκέντρωση CRH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και μικρότερο όγκο ιπποκάμπου από την υγιή ομάδα ελέγχου. Οι νευροενδοκρινολογικές διαταραχές που εμφανίζονται στο μετατραυματικό στρες προκύπτουν από την επίδραση του ψυχικού τραύματος στην δράση των γλυκοκορτικοειδών στους ιστούς και τον μεταβολισμό τους, καθώς και στην ενίσχυση της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στον άξονα ΥΥΕ ή σε χαμηλή συγκέντρωση της κορτιζόλης μέσω επιγενητικών μηχανισμών. Σε ασθενείς με ψυχαναγκαστική διαταραχή, παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις CRH και AVP στο πλάσμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, γεγονός που υποδηλώνει υπερλειτουργία του άξονα ΥΥΕ. Γενικά, έχει προταθεί η άποψη πως η συνεχή υπερδραστηριότητα του άξονα ΥΥΕ, οφείλεται σε αλλαγές στην ευαισθησία ή τον αριθμό των υποδοχέων των γλυκοκορτικοειδών σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με αγχώδεις διαταραχές όπως η αμυγδαλή, ο ιππόκαμπος και ο προμετωπιαίος φλοιός.

Η μελέτη μας έδειξε σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία στο STAI 1 ερωτηματολόγιο σε ασθενείς με ανεπάρκεια της 21 υδροξυλάσης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, γεγονός που δύναται να αντανακλά μια συσχέτιση μεταξύ χρόνιας υπερέκκρισης CRH λόγω υπερδιέγερσης του άξονα ΥΥΕ και αυξημένα επίπεδα άγχους. Επιπρόσθετα, η θετική συσχέτιση μεταξύ των μέγιστων συγκεντρώσεων της 17 OHP και των απαντήσεων στο ερωτηματολόγιο STAI 1 καθώς και το γεγονός ότι τα μέγιστα επίπεδα της 17 OHP φάνηκε να αποτελούν ανεξάρτητο προδιαθεσικό παράγοντα αγχώδους διάθεσης, πιθανόν οδηγεί σε συσχετισμό μεταξύ διαταραχής στην σύνθεση κορτιζόλης και της σοβαρότητας των συμπτωμάτων στρες. Επιπλέον, τα ευρήματα υψηλότερων αποτελεσμάτων στο STAI ερωτηματολόγιο σε φορείς της 21 OHD παρά το γεγονός ότι δεν ήταν στατιστικά σημαντικά, δύναται να υποδεικνύουν μια ενδιαφέρουσα τάση των φορέων προς το στρες.

Το στρες στην περιγεννητική περίοδο, όπως η παιδική κακοποίηση ή παραμέληση, ο αποχωρισμός του γονέα ή απώλεια του γονέα έχει συνδεθεί με μακροχρόνιες αλλαγές στην λειτουργικότητα του άξονα ΥΥΕ. Παρόμοια, ευαισθητοποίηση του άξονα ΥΥΕ παρατηρείται σε φορείς της 21 - υδροξυλάσης ακόμη και από την προγεννητική περίοδο, ενώ η αναστολή της αρνητικής παλίνδρομης δράσης των γλυκοκορτικοειδών στο άξονα ΥΥΕ, προδιαθέτει τα άτομα αυτά σε διαταραχές του στρες αργότερα στην ζωή τους, λόγω σταθερών αλλαγών στην λειτουργία του άξονα. Επιπρόσθετα, η χρόνια αύξηση της CRH και αντίστοιχα η επίδραση στον υποδοχέα της σε μακροχρόνια βάση δύναται να επιτείνει την ευαισθησία σε αγχώδεις διαταραχές πιθανόν μέσω επιγεννητικών ή μεταγραφικών μηχανισμών<sup>92,93</sup>. Σε αντίθεση μετά από παρατεταμένες περιόδους στρες, πέρα από μια αρχική κατάσταση υπεραντιδραστικότητας του άξονα ΥΥΕ, τελικά επικρατεί η ανασταλτική ρύθμιση των υποδοχέων CRH στην υπόφυση που εξελίσσεται σε μια κατάσταση υπολειτουργίας του άξονα ΥΥΕ με ελαττωμένη έκκριση κορτιζόλης και ACTH.<sup>94,95</sup> Η υπολειτουργία του άξονα ΥΥΕ έχει περιγραφεί σε αρκετές σωματικές και ψυχιατρικές διαταραχές όπως η κατάθλιψη, το μετατραυματικό στρες, το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης και η ινομυαλγία<sup>28</sup>.

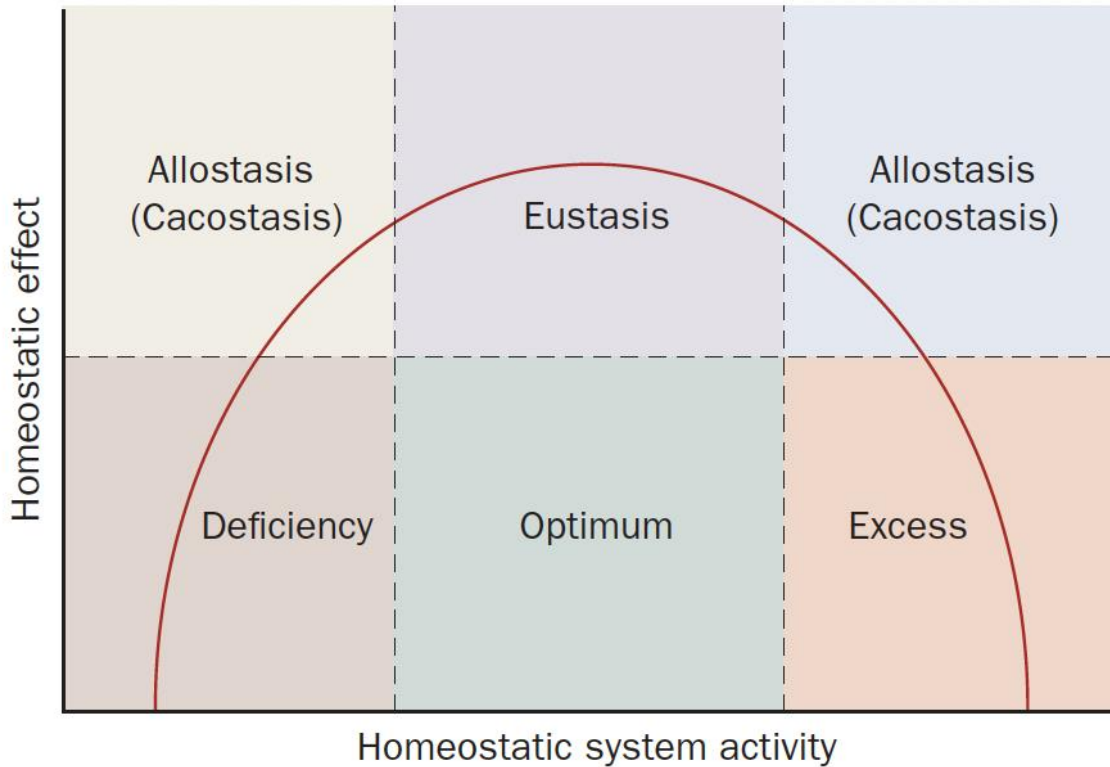


Σχήμα 15: Επίδραση του στρες σε ψυχιατρικές ασθένειες.

Σε προηγούμενη μελέτη της Charmandari et al , οι φορείς της 21- υδροξυλάσης , είχαν εμφανίσει ήπια υποκορτιζολαιμία, όπως διαπιστώθηκε από χαμηλότερα επίπεδα 24ωρης έκκρισης UFC σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Παράλληλα οι συγκεντρώσεις 24ώρης UFC στην ίδια μελέτη εμφάνισαν αρνητική συσχέτιση με τη ψυχαναγκαστική διαταραχή και την εξάρτηση από την ανταμοιβή. Στην δική μας μελέτη δεν παρατηρήσαμε ανάλογα δεδομένα αλλά μια σχετική υποκορτιζολαιμία σε φορείς της 21- υδροξυλάσης δύναται να θεωρηθεί πιθανή. Αυτή η υποκορτιζολαιμία μπορεί να οδηγήσει τους φορείς σε αδυναμία αντιμετώπισης του στρες τόσο σωματικά όσο και ψυχικά. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τόσο η υποκορτιζολαιμία όσο και η υπερκορτιζολαιμία σχετίζονται με διαφορετική ψυχοπαθολογία και διαταραχές προσωπικότητας<sup>96,97</sup>.

Ο άνθρωπος σε όλη την διάρκεια της ζωής του, καλείται να διατηρήσει μια σύνθετη και δυναμική ισορροπία ή ομοιόσταση μέσα από ενδογενείς ή εξωγενείς στρεσογόνους παράγοντες. Συνεπώς το στρες αποτελεί μια κατάσταση όπου η παραπάνω ομοιόσταση απειλείται ή διαταράσσεται, και η οποία αποκαθίσταται μέσα από σωματικούς, ψυχολογικούς και συμπεριφορικούς μηχανισμούς προσαρμογής. Οι στρεσογόνοι παράγοντες δύναται να είναι συναισθηματικοί ή ψυχολογικοί ενώ σημαντικό ρόλο δεν παίζει μόνο η ένταση τους αλλά και η διάρκεια τους. Όταν ένας στρεσογόνος παράγοντας επιδρά στον οργανισμό, ενεργοποιούνται αντιροπιστικοί μηχανισμοί για να προστατεύσουν και να αποκαταστήσουν την ομοιόσταση. Οι αλλαγές αυτές ξεκινούν από το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και επεκτείνονται σε περιφερικά όργανα και ιστούς. Στο ΚΝΣ, η απάντηση στο στρες περιλαμβάνει την ενεργοποίηση νευρωνικών μονοπατιών όπως η αφύπνιση, η συγκέντρωση, η επαγρύπνηση και την αναστολή νευρωνικών μονοπατιών που εξυπηρετούν βασικές λειτουργίες όπως η σίτιση, η ανάπτυξη και η αναπαραγωγή.

Οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί , συμπεριλαμβανομένου και του συστήματος του στρες , ασκούν την δράση τους μέσω U-shaped καμπύλης. Η ιδανική κατάσταση ομοιόστασης τοποθετείται στην κορυφή της καμπύλης ενώ μη ιδανικές συνθήκες εμφανίζονται στις άκρες της καμπύλης και οδηγούν σε ανεπαρκή ανταπόκριση στο στρες και μη διατήρηση της ισορροπίας, που ονομάζεται αλλόσταση που δύναται να προκαλέσει επιβλαβείς συνέπειες είτε βραχυχρόνια ή μακροχρόνια. Η υπολειτουργία ή υπερλειτουργία των ομοιοστατικών μηχανισμών του οργανισμού έχει πολλαπλές ανεπιθύμητες ενέργειες και μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη νοσηρότητα<sup>98,99</sup>.



Σχήμα 16: Οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί ασκούν την δράση του μέσω U shaped καμπύλης. Η ιδανική κατάσταση της ομοιόστασης βρίσκεται στην μέση και οι μη ιδανικές συνθήκες στα άκρα της καμπύλης.

Στην μελέτη μας, υποθέσαμε πως οι φορείς της 21-υδροξυλάσης, εμφανίζουν μια τάση προς την δεξιά ή αριστερή άκρη της U shaped καμπύλης, δηλαδή προς την αλλόσταση, εξαιτίας των υψηλών επιπέδων CRH και των χαμηλών επιπέδων κορτιζόλης, που εξηγεί και την σχέση μεταξύ την δυσλειτουργία του άξονα ΥΥΕ και ορισμένων ψυχολογικών παραμέτρων. Παράλληλα, παρατηρήσαμε μια θετική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων 24 UFC και παρανοϊκού

ιδεασμού και ψύχωσης . Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με προηγηθείσες μελέτες που απέδειξαν πως ασθενείς με κατάθλιψη και ψυχωτικά σύνδρομα εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά μη καταστολής της κορτιζόλης στο τεστ καταστολής δεξαμεθαζόνης<sup>100</sup>.

Η μελέτη μας περιλάμβανε τέσσερα διαφορετικά ψυχομετρικά τεστ για την αξιολόγηση της αγχώδους διαταραχής και της κατάθλιψης. Παράλληλα, τα επίπεδα κορτιζόλης μετρήθηκαν σε διαφορετικά δείγματα, συμπεριλαμβανομένου, 24ωρη συγκέντρωση ούρων, ορού και πολλαπλά δείγματα σιέλου, για να αποφευχθούν διακυμάνσεις σε έδαφος οξέων απαντήσεων στο στρες. Παρά τα παραπάνω θετικά στοιχεία της μελέτης μας , υπήρχαν και αδυναμίες που οφείλουμε να αναγνωρίσουμε. Αρχικά, είχαμε μικρό αριθμό συμμετεχόντων, συνεπώς χρειάζονται μεγαλύτερες σε μέγεθος μελέτες. Επίσης, στην περίοδο διεξαγωγής της μελέτης , οι αρνητικές κοινωνικοοικονομικές συνέπειες της οικονομικής κρίσης της χώρας δύναται να επηρεάσουν την ψυχολογία των οικογενειών , ωστόσο η δράση αυτή θα μπορούσε να αφορά και τους φορείς και την ομάδα ελέγχου περιορίζοντας, την προκατάληψη.

Τέλος, οι φορείς της 21- υδροξυλάσης , έχουν αυξημένα επίπεδα 17-OHP ως απάντηση στην διέγερση με CRH και παράλληλα εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα άγχους από ότι η ομάδα controls, γεγονός που αποδεικνύει την μειωμένη ανασταλτική δράση στον υποθάλαμο και την υπόφυση που οδηγεί σε μια υπερδιέγερση του άξονα ΥΥΕ και θέτει την υγεία των ανθρώπων αυτών σε κίνδυνο για την ανάπτυξη σωματικών και ψυχιατρικών διαταραχών.

Η παρούσα έρευνα στους φορείς της 21-υδροξυλάσης ,μαζί με προηγηθείσες μελέτες στην ομάδα αυτή, επιδιώκει στην αναγνώριση και κατανόηση της ευαισθησίας των ατόμων αυτών στο στρες και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σωματικών, ψυχικών και ψυχιατρικών διαταραχών που διατρέχουν, με στόχο την περαιτέρω εξέλιξη της έρευνας αλλά και την έγκυρη αξιολόγηση, διάγνωση και αντιμετώπιση των προβλημάτων υγείας όχι μόνο των ομοζυγωτών της 21-υδροξυλάσης αλλά και των ετεροζυγωτών.

## Βιβλιογραφία

1. Bacon GE, Kelch RP. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: a review of current knowledge. *Journal of endocrinological investigation*. Jan-Mar 1979;2(1):93-100. doi:10.1007/BF03349283
2. Falhammar H, Torpy DJ. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency Presenting as Adrenal Incidentaloma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*. Jun 2016;22(6):736-52. doi:10.4158/EP151085.RA
3. Al-Agha AE, Ocheltree AH, Al-Tamimi MD. Association between genotype, clinical presentation, and severity of congenital adrenal hyperplasia: a review. *The Turkish journal of pediatrics*. Jul-Aug 2012;54(4):323-32.
4. Merke D, Kabbani M. Congenital adrenal hyperplasia: epidemiology, management and practical drug treatment. *Paediatric drugs*. 2001;3(8):599-611.
5. Merke DP, Bornstein SR. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet*. Jun 18-24 2005;365(9477):2125-36. doi:10.1016/S0140-6736(05)66736-0
6. Odenwald B, Nennstiel-Ratzel U, Dorr HG, Schmidt H, Wildner M, Bonfig W. Children with classic congenital adrenal hyperplasia experience salt loss and hypoglycemia: evaluation of adrenal crises during the first 6 years of life. *European journal of endocrinology*. Feb 2016;174(2):177-86. doi:10.1530/EJE-15-0775
7. Lekarev O, Lin-Su K, Vogiatzi MG. Infertility and Reproductive Function in Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia: Pathophysiology, Advances in Management, and Recent Outcomes. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. Dec 2015;44(4):705-22. doi:10.1016/j.ecl.2015.07.009
8. Merke DP, Poppas DP. Management of adolescents with congenital adrenal hyperplasia. *The lancet Diabetes & endocrinology*. Dec 2013;1(4):341-52. doi:10.1016/S2213-8587(13)70138-4
9. Merke DP, Camacho CA. Novel basic and clinical aspects of congenital adrenal hyperplasia. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. Aug 2001;2(3):289-96.
10. Verma S, Green-Golan L, VanRyzin C, et al. Adrenomedullary function in patients with nonclassic congenital adrenal hyperplasia. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. Jul 2010;42(8):607-12. doi:10.1055/s-0030-1253385



11. Sugino Y, Usui T, Okubo K, et al. Genotyping of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency presenting as male infertility: case report and literature review. *Journal of assisted reproduction and genetics*. Sep-Oct 2006;23(9-10):377-80. doi:10.1007/s10815-006-9062-0
12. Speiser PW, Azziz R, Baskin LS, et al. A Summary of the Endocrine Society Clinical Practice Guidelines on Congenital Adrenal Hyperplasia due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency. *International journal of pediatric endocrinology*. 2010;2010:494173. doi:10.1155/2010/494173
13. Merke DP, Bornstein SR, Avila NA, Chrousos GP. NIH conference. Future directions in the study and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Annals of internal medicine*. Feb 19 2002;136(4):320-34.
14. Stewart S. Treating congenital adrenal hyperplasia. *Nursing times*. Dec 11-2014 Jan 14 2013;109(49-50):23.
15. Peter M, Sippell WG, Lorenzen F, Willig RP, Westphal E, Grosse-Wilde H. Improved test to identify heterozygotes for congenital adrenal hyperplasia without index case examination. *Lancet*. Jun 2 1990;335(8701):1296-9.
16. Charmandari E, Merke DP, Negro PJ, et al. Endocrinologic and psychologic evaluation of 21-hydroxylase deficiency carriers and matched normal subjects: evidence for physical and/or psychologic vulnerability to stress. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. May 2004;89(5):2228-36. doi:10.1210/jc.2003-031322
17. Chrousos GP, Zoumakis E. Milestones in CRH Research. *Curr Mol Pharmacol*. 2017;10(4):259-263. doi:10.2174/1874467210666170109165219
18. Chrousos GP. Regulation and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The corticotropin-releasing hormone perspective. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. Dec 1992;21(4):833-58.
19. Leonard BE, Myint A. The psychoneuroimmunology of depression. *Human psychopharmacology*. Apr 2009;24(3):165-75. doi:10.1002/hup.1011
20. Skutella T, Criswell H, Moy S, et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) antisense oligodeoxynucleotide induces anxiolytic effects in rat. *Neuroreport*. Oct 27 1994;5(16):2181-5.
21. Breese GR, Knapp DJ, Overstreet DH. Stress sensitization of ethanol withdrawal-induced reduction in social interaction: inhibition by CRF-1 and benzodiazepine receptor antagonists and a 5-HT1A-receptor agonist. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. Mar 2004;29(3):470-82. doi:10.1038/sj.npp.1300282

22. Zoumakis E, Rice KC, Gold PW, Chrousos GP. Potential uses of corticotropin-releasing hormone antagonists. *Ann N Y Acad Sci*. Nov 2006;1083:239-51. doi:10.1196/annals.1367.021
23. Gehlert DR, Shaw JL. Increased brain neuropeptide Y1 and Y2 receptor binding in NPY knock out mice does not result in increased receptor function. *Peptides*. Feb 2007;28(2):241-9. doi:10.1016/j.peptides.2006.08.040
24. Chatzaki E, Minas V, Zoumakis E, Makrigiannakis A. CRF receptor antagonists: utility in research and clinical practice. *Curr Med Chem*. 2006;13(23):2751-60. doi:10.2174/092986706778521977
25. Shaham Y, Funk D, Erb S, Brown TJ, Walker CD, Stewart J. Corticotropin-releasing factor, but not corticosterone, is involved in stress-induced relapse to heroin-seeking in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. Apr 01 1997;17(7):2605-14.
26. Shalev U, Erb S, Shaham Y. Role of CRF and other neuropeptides in stress-induced reinstatement of drug seeking. *Brain research*. Feb 16 2010;1314:15-28. doi:10.1016/j.brainres.2009.07.028
27. Marinelli PW, Funk D, Juzysch W, et al. The CRF1 receptor antagonist antalarmin attenuates yohimbine-induced increases in operant alcohol self-administration and reinstatement of alcohol seeking in rats. *Psychopharmacology*. Dec 2007;195(3):345-55. doi:10.1007/s00213-007-0905-x
28. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*. Oct 2002;53(4):865-71.
29. Karalis K, Muglia LJ, Bae D, Hilderbrand H, Majzoub JA. CRH and the immune system. *Journal of neuroimmunology*. Feb 1997;72(2):131-6.
30. Walczewska J, Dzieza-Grudnik A, Siga O, Grodzicki T. The role of urocortins in the cardiovascular system. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. Dec 2014;65(6):753-66.
31. Wright SP, Doughty RN, Frampton CM, Gamble GD, Yandle TG, Richards AM. Plasma urocortin 1 in human heart failure. *Circulation Heart failure*. Sep 2009;2(5):465-71. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.840207
32. Ng LL, Loke IW, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE. Plasma urocortin in human systolic heart failure. *Clinical science*. Apr 2004;106(4):383-8. doi:10.1042/CS20030311
33. Topal E, Yagmur J, Otlu B, et al. Relationship of urocortin-2 with systolic and diastolic functions and coronary artery disease: an observational study. *Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology*. Mar 2012;12(2):115-20. doi:10.5152/akd.2012.036
34. Yildirim E, Keles I, Cakmak HA, Cosansu K, Can G, Ikitimur B. Evaluation of the clinical utility of urocortin 1 in systolic heart failure. *Kardiologia polska*. 2014;72(5):452-8. doi:10.5603/KP.a2013.0353

35. Fukudo S. Role of corticotropin-releasing hormone in irritable bowel syndrome and intestinal inflammation. *Journal of gastroenterology*. Jan 2007;42 Suppl 17:48-51. doi:10.1007/s00535-006-1942-7
36. Liu YC, Qi ZW, Guo SG, Wang Z, Yu XZ, Ma S. Role of corticotrophin releasing hormone in cerebral infarction-related gastrointestinal barrier dysfunction. *World journal of emergency medicine*. 2011;2(1):59-65.
37. Zoumakis E, Makrigiannakis A, Margioris AN, Stournaras C, Gravanis A. Endometrial corticotropin-releasing hormone. Its potential autocrine and paracrine actions. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Sep 26 1997;828:84-94.
38. Kalantaridou SN, Zoumakis E, Makrigiannakis A, Lavasidis LG, Vrekoussis T, Chrousos GP. Corticotropin-releasing hormone, stress and human reproduction: an update. *Journal of reproductive immunology*. May 2010;85(1):33-9. doi:10.1016/j.jri.2010.02.005
39. Kiapekou E, Zapanti E, Mastorakos G, Loutradis D. Update on the role of ovarian corticotropin-releasing hormone. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Sep 2010;1205:225-9. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05685.x
40. Mastorakos G, Webster EL, Chrousos GP. Corticotropin-releasing hormone and its receptors in the ovary: physiological implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*. May 28 1993;687:20-8.
41. Zoumakis E, Chatzaki E, Charalampopoulos I, et al. Cycle and age-related changes in corticotropin-releasing hormone levels in human endometrium and ovaries. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. Apr 2001;15(2):98-102.
42. Zoumakis E, Margioris AN, Makrigiannakis A, Stournaras C, Gravanis A. Human endometrium as a neuroendocrine tissue: expression, regulation and biological roles of endometrial corticotropin-releasing hormone (CRH) and opioid peptides. *Journal of endocrinological investigation*. Mar 1997;20(3):158-67. doi:10.1007/BF03346896
43. Zoumakis E, Makrigiannakis A, Margioris A, Stournaras C, Gravanis A. Corticotropin releasing hormone (CRH) in normal and pregnant uterus: physiological implications. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. Jan 01 1996;1:e1-8.
44. Makrigiannakis A, Zoumakis E, Kalantaridou S, et al. Corticotropin-releasing hormone promotes blastocyst implantation and early maternal tolerance. *Nature immunology*. Nov 2001;2(11):1018-24. doi:10.1038/ni719
45. Makrigiannakis A, Semmler M, Briese V, et al. Maternal serum corticotropin-releasing hormone and ACTH levels as predictive markers of premature labor. *International journal of gynaecology and*

*obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. May 2007;97(2):115-9. doi:10.1016/j.ijgo.2007.01.007

46. Slominski A, Zbytek B, Zmijewski M, et al. Corticotropin releasing hormone and the skin. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. Sep 01 2006;11:2230-48.

47. O'Kane M, Murphy EP, Kirby B. The role of corticotropin-releasing hormone in immune-mediated cutaneous inflammatory disease. *Experimental dermatology*. Mar 2006;15(3):143-53. doi:10.1111/j.1600-0625.2006.00382.x

48. Kono M, Nagata H, Umemura S, Kawana S, Osamura RY. In situ expression of corticotropin-releasing hormone (CRH) and proopiomelanocortin (POMC) genes in human skin. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. Oct 2001;15(12):2297-9. doi:10.1096/fj.01-0254fje

49. Perpina-Galvan J, Richart-Martinez M, Cabanero-Martinez MJ, Martinez-Dura I. Content validity of the short version of the subscale of the State-Trait Anxiety Inventory (STAI). *Revista latino-americana de enfermagem*. Jul-Aug 2011;19(4):882-7.

50. Cirpar OC, Muluk NB, Yalcinkaya F, Arikan OK, Oguzturk O, Aslan F. State-Trait Anxiety Inventory (STAI) assessment of mothers with language delayed children. *Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale*. Feb 01 2010;33(1):E30-5.

51. Julian LJ. Measures of anxiety: State-Trait Anxiety Inventory (STAI), Beck Anxiety Inventory (BAI), and Hospital Anxiety and Depression Scale-Anxiety (HADS-A). *Arthritis care & research*. Nov 2011;63 Suppl 11:S467-72. doi:10.1002/acr.20561

52. Wang YP, Gorenstein C. Psychometric properties of the Beck Depression Inventory-II: a comprehensive review. *Revista brasileira de psiquiatria*. Oct-Dec 2013;35(4):416-31. doi:10.1590/1516-4446-2012-1048

53. Kapci EG, Uslu R, Turkcapar H, Karaoglan A. Beck Depression Inventory II: evaluation of the psychometric properties and cut-off points in a Turkish adult population. *Depression and anxiety*. 2008;25(10):E104-10. doi:10.1002/da.20371

54. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry*. Jun 1961;4:561-71.

55. Little K, Penman E. Measuring subacute mood changes using the profile of mood states and visual analogue scales. *Psychopathology*. 1989;22(1):42-9.

56. Edwards RR, Haythornthwaite J. Mood swings: variability in the use of the Profile of Mood States. *Journal of pain and symptom management*. Dec 2004;28(6):534. doi:10.1016/j.jpainsymman.2004.10.004

57. Yeun EJ, Shin-Park KK. Verification of the profile of mood states-brief: cross-cultural analysis. *Journal of clinical psychology*. Sep 2006;62(9):1173-80. doi:10.1002/jclp.20269
58. Brandstrom S, Schlette P, Przybeck TR, et al. Swedish normative data on personality using the Temperament and Character Inventory. *Comprehensive psychiatry*. May-Jun 1998;39(3):122-8.
59. Fossati A, Cloninger CR, Villa D, et al. Reliability and validity of the Italian version of the Temperament and Character Inventory-Revised in an outpatient sample. *Comprehensive psychiatry*. Jul-Aug 2007;48(4):380-7. doi:10.1016/j.comppsy.2007.02.003
60. Cloninger CR. A practical way to diagnosis personality disorder: a proposal. *Journal of personality disorders*. Summer 2000;14(2):99-108.
61. Cohen S, Kamarck T, Mermelstein R. A global measure of perceived stress. *Journal of health and social behavior*. Dec 1983;24(4):385-96.
62. Katsarou A, Panagiotakos D, Zafeiropoulou A, et al. Validation of a Greek version of PSS-14; a global measure of perceived stress. *Central European journal of public health*. Jun 2012;20(2):104-9.
63. Derogatis LR, Rickels K, Rock AF. The SCL-90 and the MMPI: a step in the validation of a new self-report scale. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*. Mar 1976;128:280-9.
64. Ardakani A, Seghatoleslam T, Habil H, et al. Construct Validity of Symptom Checklist-90-Revised (SCL-90-R) and General Health Questionnaire-28 (GHQ-28) in Patients with Drug Addiction and Diabetes, and Normal Population. *Iranian journal of public health*. Apr 2016;45(4):451-9.
65. Woody SR, Steketee G, Chambless DL. The usefulness of the Obsessive Compulsive Scale of the Symptom Checklist-90-Revised. *Behaviour research and therapy*. Jun 1995;33(5):607-11.
66. Chrousos GP, Schulte HM, Oldfield EH, Gold PW, Cutler GB, Jr., Loriaux DL. The corticotropin-releasing factor stimulation test. An aid in the evaluation of patients with Cushing's syndrome. *The New England journal of medicine*. Mar 08 1984;310(10):622-6. doi:10.1056/NEJM198403083101004
67. Newport DJ, Heim C, Owens MJ, et al. Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressin concentrations predict pituitary response in the CRF stimulation test: a multiple regression analysis. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. Mar 2003;28(3):569-76. doi:10.1038/sj.npp.1300071
68. Zacharieva S, Matrosov P, Stoeva I, Kirilov G. Corticotropin-releasing factor (CRF) stimulation test in normal subjects and patients with Cushing's syndrome. *Experimental and clinical endocrinology*. Apr 1989;93(1):19-28. doi:10.1055/s-0029-1210832

69. Muller OA, Dorr HG, Hagen B, Stalla GK, von Werder K. Corticotropin releasing factor (CRF)-stimulation test in normal controls and patients with disturbances of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Klinische Wochenschrift*. Dec 15 1982;60(24):1485-91.
70. Elias AN, Gwinup G. Corticotropin-releasing factor stimulation test. *The New England journal of medicine*. Aug 16 1984;311(7):471-3. doi:10.1056/NEJM198408163110719
71. Schurmeyer TH, Avgerinos PC, Gold PW, et al. Human corticotropin-releasing factor in man: pharmacokinetic properties and dose-response of plasma adrenocorticotropin and cortisol secretion. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Dec 1984;59(6):1103-8. doi:10.1210/jcem-59-6-1103
72. DeCherney GS, DeBold CR, Jackson RV, Sheldon WR, Jr., Island DP, Orth DN. Diurnal variation in the response of plasma adrenocorticotropin and cortisol to intravenous ovine corticotropin-releasing hormone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Aug 1985;61(2):273-9. doi:10.1210/jcem-61-2-273
73. Orth DN, DeBold CR, DeCherney GS, et al. Clinical studies with synthetic ovine corticotropin-releasing factor. *Federation proceedings*. Jan 1985;44(1 Pt 2):197-202.
74. Young WF, Jr., Zinsmeister AR, Twomey CK, Kao PC, Jiang NS, Carpenter PC. Ovine corticotropin releasing hormone stimulation test: normal value study. *Mayo Clinic proceedings*. Jul 1990;65(7):943-8.
75. Aranda G, Careaga M, Hanzu FA, et al. Accuracy of immunoassay and mass spectrometry urinary free cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Pituitary*. Oct 2016;19(5):496-502. doi:10.1007/s11102-016-0730-5
76. Makras P, Toloumis G, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. *Hormones*. Oct-Dec 2006;5(4):231-50.
77. Boscaro M, Karbowiak I, Mantero F. Free urinary cortisol radioimmunoassay (application in the diagnosis of adrenal diseases). *La Ricerca in clinica e in laboratorio*. Jul-Sep 1978;8(3):169-78.
78. Carroll BJ, Curtis GC, Davies BM, Mendels J, Sugerman AA. Urinary free cortisol excretion in depression. *Psychological medicine*. Feb 1976;6(1):43-50.
79. Mikkelsen AL, Felding C, Hasselbalch H. Urinary free cortisol during pregnancy. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1984;63(3):253-6.
80. Lin CL, Wu TJ, Machacek DA, Jiang NS, Kao PC. Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. Jan 1997;82(1):151-5. doi:10.1210/jcem.82.1.3687
81. Taylor RL, Machacek D, Singh RJ. Validation of a high-throughput liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for urinary cortisol and cortisone. *Clinical chemistry*. Sep 2002;48(9):1511-9.

82. Deutschbein T, Unger N, Mann K, Petersenn S. Diagnosis of secondary adrenal insufficiency: unstimulated early morning cortisol in saliva and serum in comparison with the insulin tolerance test. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. Nov 2009;41(11):834-9. doi:10.1055/s-0029-1225630
83. Turpeinen U, Hamalainen E. Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. Dec 2013;27(6):795-801. doi:10.1016/j.beem.2013.10.008
84. Bigert C, Bluhm G, Theorell T. Saliva cortisol--a new approach in noise research to study stress effects. *International journal of hygiene and environmental health*. 2005;208(3):227-30. doi:10.1016/j.ijheh.2005.01.014
85. Vining RF, McGinley RA, Symons RG. Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clinical chemistry*. Oct 1983;29(10):1752-6.
86. Hellhammer DH, Wust S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. Feb 2009;34(2):163-71. doi:10.1016/j.psyneuen.2008.10.026
87. Kahn SE, Maxwell JU, Barron JL. Salivary cortisol assessment in the evaluation of hypothalamic-pituitary-adrenal function. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. May 26 1984;65(21):843-6.
88. Aardal-Eriksson E, Karlberg BE, Holm AC. Salivary cortisol--an alternative to serum cortisol determinations in dynamic function tests. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. Apr 1998;36(4):215-22. doi:10.1515/CCLM.1998.037
89. Vining RF, McGinley RA, Maksvytis JJ, Ho KY. Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. *Annals of clinical biochemistry*. Nov 1983;20 (Pt 6):329-35. doi:10.1177/000456328302000601
90. Poll EM, Kreitschmann-Andermahr I, Langejuergen Y, et al. Saliva collection method affects predictability of serum cortisol. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. Jul 2007;382(1-2):15-9. doi:10.1016/j.cca.2007.03.009
91. Laryea G, Arnett MG, Muglia LJ. Behavioral Studies and Genetic Alterations in Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Neurocircuitry: Insights into Human Psychiatric Disorders. *Behav Sci (Basel)*. Jun 21 2012;2(2):135-71. doi:10.3390/bs2020135
92. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Chrousos GP. Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Horm Res*. 2003;59(4):161-79. doi:10.1159/000069325
93. Faravelli C, Lo Sauro C, Godini L, et al. Childhood stressful events, HPA axis and anxiety disorders. *World J Psychiatry*. Feb 22 2012;2(1):13-25. doi:10.5498/wjp.v2.i1.13

94. Vreeburg SA, Hoogendijk WJ, DeRijk RH, et al. Salivary cortisol levels and the 2-year course of depressive and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology*. Sep 2013;38(9):1494-502. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.12.017
95. Penninx BW, Beekman AT, Bandinelli S, et al. Late-life depressive symptoms are associated with both hyperactivity and hypoactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Am J Geriatr Psychiatry*. Jun 2007;15(6):522-9. doi:10.1097/JGP.0b013e318033ed80
96. Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry*. 2002;7(3):254-75. doi:10.1038/sj.mp.4001032
97. Hori H, Ozeki Y, Teraishi T, et al. Relationships between psychological distress, coping styles, and HPA axis reactivity in healthy adults. *J Psychiatr Res*. Oct 2010;44(14):865-73. doi:10.1016/j.jpsychires.2010.02.007
98. Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev*. 1992;16(2):115-30. doi:10.1016/s0149-7634(05)80175-7
99. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*. Mar 04 1992;267(9):1244-52.
100. Nelson JC, Davis JM. DST studies in psychotic depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry*. Nov 1997;154(11):1497-503. doi:10.1176/ajp.154.11.1497



