

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET ZA FIZIČKU HEMIJU

doktorska disertacija

**MODELOVANJE UTICAJA STRESA NA
DINAMIKU HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-
ADRENALNOG SISTEMA**

Smiljana Ž. Jelić

Beograd, 2012.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHYSICAL CHEMISTRY

Doctoral Dissertation

**MODELING OF THE STRESS INFLUENCE
ON THE HYPOTHALAMO-PITUITARY-
ADRENAL SYSTEM DYNAMICS**

Smiljana Ž. Jelić

Belgrade, 2012.

Mentori:

dr Ljiljana Kolar-Anić, redovni profesor

Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu

dr Željko Čupić, naučni savetnik

Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

dr Ljiljana Kolar-Anić, redovni profesor

Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu

dr Željko Čupić, naučni savetnik

Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu

dr Dragomir Stanisavljev, redovni profesor

Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu

dr Svetozar Damjanović, redovni profesor

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Miloš Beljanski, naučni savetnik

Institut za opštu i fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu

Ovaj doktorski rad rađen je pri Laboratoriji za teorijsku fiziku i fiziku kondenzovane materije Instituta za nuklearne nauke “Vinča” 020/2, kao i Fakulteta za fizičku hemiju u okviru projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Srbije br.142025, pod mentorstvom prof dr Ljiljane Kolar-Anić, rukovodioca projekta i redovnog profesora Fakulteta za fizičku hemiju Univerziteta u Beogradu i dr Željka Čupića, naučnog savetnika Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju u Beogradu. Ovom prilikom želim da se najsrdanije zahvalim mentorima na svestranoj pomoći i podršci, velikom entuzijazmu i strpljenju iskazanom tokom našeg zajedničkog rada.

Zahvaljujem se dr Vladani Vukojević, saradniku Odeljenja za kliničku neuronauku, Instituta Karolinska, u Stokholmu, Švedska, na iskazanoj saradnji i pomoći pruženoj pri dobijanju dela rezultata prikazanih u ovoj disertaciji, kao i na korisnim sugestijama.

Dr Vojislavu Spasojeviću, naučnom savetniku Instituta za nuklearne nauke “Vinča”, i direktoru laboratorije 020/2, zahvaljujem na pokazanom razumevanju i stalnoj podršci koju mi je pružao tokom mog višegodišnjeg rada u Institutu “Vinča”.

Dragim koleginicama i kolegama iz Laboratorije 020/2 Instituta „Vinča” najlepše hvala na prijateljskoj podršci, pomoći, saradnji i razumevanju. Naročito se zahvaljujem dr Mirjani Milić, dr Nataši Jović, dr Slađani Novaković, dr Zoranu Tomiću, dr Danki Savić i dr Dragani Marković (†), koja nazalost više nije sa nama.

Zahvaljujem se i svima onima koji nisu ovom prilikom spomenuti, a čija je saradnja rezultirala zajedničkim publikacijama.

Posebnu zahvalnost dugujem onima koji su uvek bili tu da mi pruže moralnu i svaku drugu podršku, mojoj porodici, njima i posvećujem ovaj rad.

Smiljana Jelić

REZIME

U ovom doktorskom radu razmatrano je modelovanje hipotalamo-hipofizno-adrenalnog (HPA) sistema, veoma složenog i važnog neuroendokrinog sistema, bitnog za održavanje svakodnevnih fizioloških funkcija organizma, i presudnog za odgovor organizma na dejstvo različitih stresora, odnosno u reakciji „bori se ili beži“. Cilj rada je modelovanje uticaja stresa na dinamiku HPA sistema. U tu svrhu postavljen je stehiometrijski model koji opisuje dnevni ritam sekrecije hormona ovog sistema, analizirana stabilnost sistema diferencijalnih jednačina koje slede iz njega i ispitivana simulacija rada ovog sistema pri dejstvu stresora.

U složenom biološkom sistemu, kao što je HPA sistem, gde nisu još u potpunosti razjašnjeni svi procesi i mehanizmi funkcionisanja, a ni sve nije merljivo, matematičko modelovanje je korisno, posebno ako bi pomoglo da se izdvoje i definišu individualne karakteristike na osnovu kojih bismo mogli predvideti kako bi pojedinac reagovao u različitim situacijama.

U poglavlju 1, izložen je opis hipotalamo-hipofizno-adrenalnog sistema. Krajnji proizvod ovog sistema, hormon kortizol (kod čoveka) i kortikosteron (kod glodara), pozitivnim i negativnim povratnim spregama reguliše sopstveno stvaranje, odnosno aktivnost čitavog sistema.

U poglavlju 2, dat je kratak prikaz nekoliko do sada u stručnoj literaturi objavljenih modela ovog sistema i istaknuta razlika između stehiometrijskih i nestehiometrijskih modela.

U poglavlju 3, izložen je model razmatran u ovom radu, koji opisuje ritam rada hipotalamo-hipofizno-adrenalnog sistema i analizirana je stabilnost datog modela primenom metode stehiometrijske mrežne analize.

U poglavlju 4 prikazani su rezultati numeričkih simulacija rada HPA sistema pri akutnom i hroničnom dejstvu stresora, dobijeni na osnovu razmatranog modela.

Svrha ovog rada nije bila da se formuliše matematički model HPA sistema koji bi opisivao sve procese prisutne u ovom složenom sistemu, jer čak i kada bi to bilo moguće uraditi, dobijeni model bi bio preobiman i davao bi malo značajnih odnosa u sistemu. Umesto toga, cilj nam je bio formulisanje minimalnog modela koji bi dovoljno verno prikazao suštinski bitne interakcije i predvideo ponašanje sistema pri zadatim uslovima.

Ključne reči: HPA, kortizol, aldosteron, CRH, ACTH, MR i GR receptori, modeliranje procesa, povratna sprega, numeričke simulacije, stres

Naučna oblast: fizička hemija

Uža naučna oblast: biofizička hemija i dinamika neravnotežnih procesa

UDK broj:

ABSTRACT

In this doctoral dissertation modelling of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) system, a very complex and important neuroendocrine system, relevant for maintenance of everyday physiological functions of an organism, and crucial in response to different stressors, i.e. in "fight or flight" reaction, is considered. The aim of this work is modelling of the influence of stressors on the HPA system dynamics. With this intention, a stoichiometric model was made, to describe the daily rhythm of hormonal secretion, stability of corresponding differential equations system was analyzed, and functioning of this system under stress was simulated.

In complex biological systems, such as the HPA system, where all underlying processes and mechanisms are not fully understood yet, and not everything could be measured, mathematical modelling is useful, especially if it could lead to, and define individual personal characteristics, based on which we could estimate how would a person react in different situations.

In chapter 1, description of the HPA system is given. Final products of this system, hormones cortisol (in humans), and corticosterone (in rats), through different positive and negative feedback actions regulate their own production, i.e. activity of this system.

In chapter 2, a short description of several models of this system published in the literature so far, and a difference between stoichiometric and non-stoichiometric models is specified.

In chapter 3, the model of the HPA system functioning considered in this work is described, and stability of this model is analyzed using stoichiometric network analysis.

In chapter 4, results of numerical simulations of the HPA system functioning, under acute and chronic stress conditions, obtained based on the model considered, are given.

The aim of this work wasn't to formulate a mathematical model that could describe all processes present in this complex system, because even if that could be possible, resulting model would be too large and it would not give enough important relations in the system. Instead of that, our aim was to formulate a minimal model that could describe crucial interactions in the system, and predict the behaviour of the system in given conditions.

Key words: HPA, cortisol, aldosterone, CRH, ACTH, MR and GR receptors, modeling of processes, feedback actions, numerical simulations, stress

Sadržaj:

UVOD	1
1. HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNI SISTEM	3
2. MODELOVANJE HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNOG SISTEMA.....	15
3. PREDLOŽENI MODEL HIPOTALAMO-HIPOFIZNO- ADRENALNOG SISTEMA.....	35
3.1. Prikaz polaznog modela HPA sistema	35
3.2. Analiza stabilnosti.....	41
3.2.1 Andronov-Hopf bifurkacije.....	41
3.2.2 Analiza stehiometrijskih mreža.....	43
4. STRESNA REAKCIJA I HIPOTALAMO-HIPOFIZNO- ADRENALNI SISTEM.....	50
4.1. Numeričke simulacije	51
4.1.1. Aktivnost HPA sistema pri bazalnim uslovima.....	51
4.1. 2. Aktivnost HPA sistema pri akutnom dejstvu stresora.....	54
4.1.3. Uticaj oblika funkcije koja opisuje dnevni ritam HPA sistema na njegov rad.....	58
4.1.4.Hronično dejstvo stresora i rad HPA sistema.....	60

ZAKLJUČAK	63
Literatura	65
Biografija autora.....	79
OZNAKE.....	82

Uvod

Zbog svoje univerzalnosti, savremena teorija modeliranja procesa i ispitivanja stabilnosti dinamičkih sistema primenjuje se u najrazličitijim oblastima nauke, kao što su, na primer, fizika, hemija, fizička hemija, biologija, medicina, psihologija, ekonomija, meteorologija, saobraćaj, ili astronomija.

Uočljiva je sve šira primena matematičkih metoda u biologiji. Biološki sistemi su veoma kompleksni i sa visokim stepenom uređenosti. Oni imaju jedinstvenu sposobnost da sačuvaju i prenose informacije. Očuvanje života zahteva kontinuirani metabolizam i sintezu makromolekula, kao i regulaciju tih procesa. Ogroman broj hemijskih reakcija, koje uključuju složene povratne veze, odigravaju se u gusto popunjenom prostoru od samo nekoliko kubnih mikrona. Zbog toga smo prinuđeni da u opisivanje takvih sistema uvodimo razne aproksimacije.

Prvi korak u istraživačkom procesu, čiji je cilj pravljenje modela mehanizma nekog biološkog sistema, je izolovanje malog broja bitnih promenljivih koje taj sistem opisuju, ili spajanje više varijabli na odgovarajući način, da bi se mogle odrediti bitne relacije među njima. U ranim fazama ispitivanja nekog procesa ili sistema, model bi trebalo da bude jednostavniji. Analiza takvog, minimalnog, modela može dati neka bitna svojstva i uslove koje moraju ispuniti složeniji modeli, dobijeni proširivanjem polaznog modela.

Kod živih organizama opisani su mnogobrojni oscilatorni procesi sa periodima od nekoliko sekundi, časova ili dana, kao i mesečni pa i godišnji ritmovi. Među najviše proučavanim fiziološkim oscilatornim fenomenima su tzv. cirkadijalne, odnosno dnevne, oscilacije hormona, čiji period je približno 24 h, koje imaju presudnu ulogu u adaptaciji živih organizama na periodične promene u njihovoj životnoj sredini. I sa teorijskog i sa eksperimentalnog stanovišta, veliki je izazov napraviti i analizirati model nekog biološkog sistema.

Zašto uopšte praviti matematički model biološkog sistema? Možemo reći da matematičko opisivanje živog sistema služi boljem razumevanju tog sistema,

odnosno matematički model služi za sažimanje poznatih eksperimentalnih podataka, kao i proveru novih hipoteza, koje se odnose na funkcionisanje i strukturu posmatranog sistema. Dobar model, pored toga što dovoljno verno reprodukuje rad razmatranog sistema, treba i da predvidi kako će se taj sistem ponašati pri zadatim uslovima i time može unapred dati očekivane rezultate nekog budućeg realnog eksperimenta. Sledeći korak, nakon predviđanja, je kontrola ponašanja sistema, sa ciljem da se on dovede u neko željeno stanje, ili dalje od nekog nepoželjnog stanja.

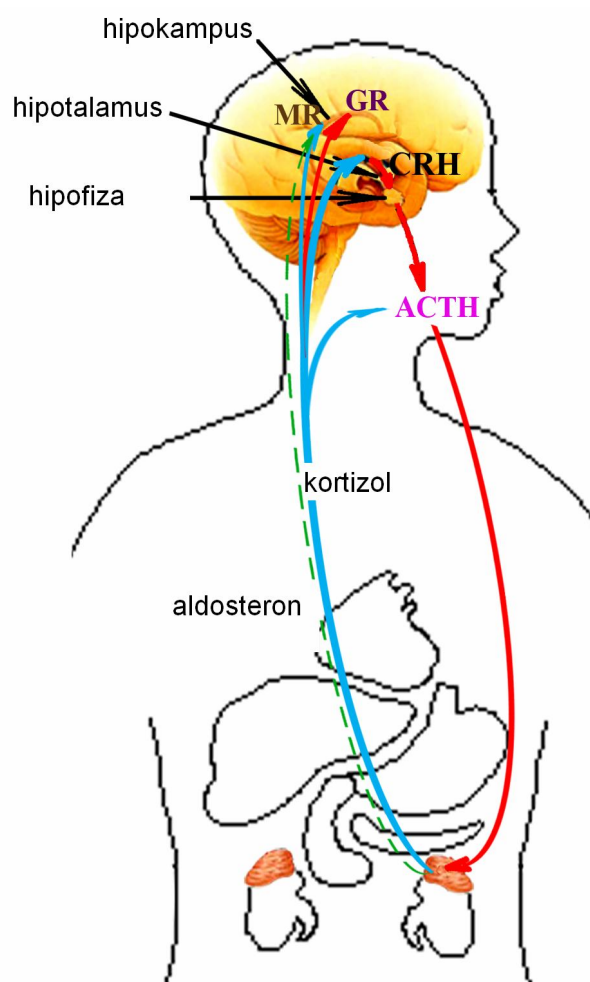
Znači, osnovni ciljevi modelovanja bioloških sistema su: razumevanje njihove strukture i funkcionisanja, predviđanje i kontrola ponašanja sistema.

Jedan isti biološki proces možemo opisati različitim matematičkim modelima, zavisno od polaznih pretpostavki, hipoteza, poznatih eksperimentalnih rezultata, kao i mogućnosti samih diferencijalnih jednačina, tako da jedan isti proces možemo prikazati sa različitom biološkom dubinom.

Pri sastavljanju dinamičkih jednačina, treba uzeti u obzir mnoge faktore koji utiču na oblik diferencijalnih jednačina kojima opisujemo sistem. Problem izbora oblika diferencijalnih jednačina je prilično složen i u zavisnosti od postavke problema i cilja ispitivanja možemo uzeti linearne, nelinearne, homogene, nehomogene, obične ili jednačine sa parcijalnim izvodima. Osim toga, uvođenjem efekata vremenskog kašnjenja, posmatrani biološki sistem možemo opisati i diferencijalnim jednačinama sa kašnjenjem. Ponekad povećanje biološke složenosti dozvoljava smanjenje matematičke složenosti modela, zbog toga pri proučavanju nekog biološkog procesa treba obratiti pažnju na biološki smisao jednačina.

1. HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNI SISTEM

Hipotalamo-hipofizno-adrenalni (HPA) sistem je složen neuroendokrini sistem koji čine: hipotalamus, hipofiza i kora nadbubrežnih žlezda (slika 1). Osnovna uloga ovog sistema je da reguliše mnoštvo procesa u organizmu, pri svakodnevnim (bazalnim) uslovima, kao i tokom stresne reakcije, regulisanjem nivoa hormona koje luče nadbubrežne žlezde [1].

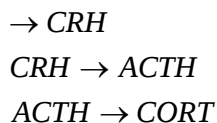


Slika 1. Hipotalamo-hipofizno-adrenalni sistem, čine ga hipotalamus, hipofiza i kora nadbubrežnih žlezda.

Pod stresnom reakcijom podrazumevamo odgovor organizma na dejstvo različitih spoljnjih ili unutrašnjih stresora (bioloških, psiholoških, ili socijalnih činilaca koji remete ili ugrožavaju normalno funkcionisanje organizma).

Pod dejstvom viših nervnih centara iz dela hipotalamusa nazvanog paraventricularni nukleus (PVN) oslobađaju se kortikotropni oslobađajući hormon (CRH) (skracenica dobijena od engleskog naziva "Corticotropin-releasing hormone") i vazopresin, koji su glavni (ali ne i jedini) aktivatori stvaranja i sekrecije adrenokortikotropnog hormona (ACTH) iz prednjeg režnja hipofize [2]. ACTH stimuliše nadbubrežne žlezde i dolazi do sinteze i sekrecije glukokortikoida, čiji je glavni predstavnik kod čoveka kortizol (CORT), a kod glodara kortikosteron, i mineralokortikoida, čiji glavni predstavnik je aldosteron, iz odgovarajućih delova kore nadbubrežnih žlezda (zone fascikulata i zone glomerulosa, redom). Adrenalni seksualni steroidi sintetišu se unutar zone reticularis, dok se kateholamini (dopamin, adrenalin i noradrenalin) luče iz srži nadbubrežnih žlezda [1,2,3]. Tri koncentrične, funkcionalno različite, zone kore nadbubrega opisao je Arnold 1866. godine [1].

Kaskada hormona HPA sistema, koja rezultira stvaranjem kortizola, može se pojednostavljeno prikazati na sledeći način

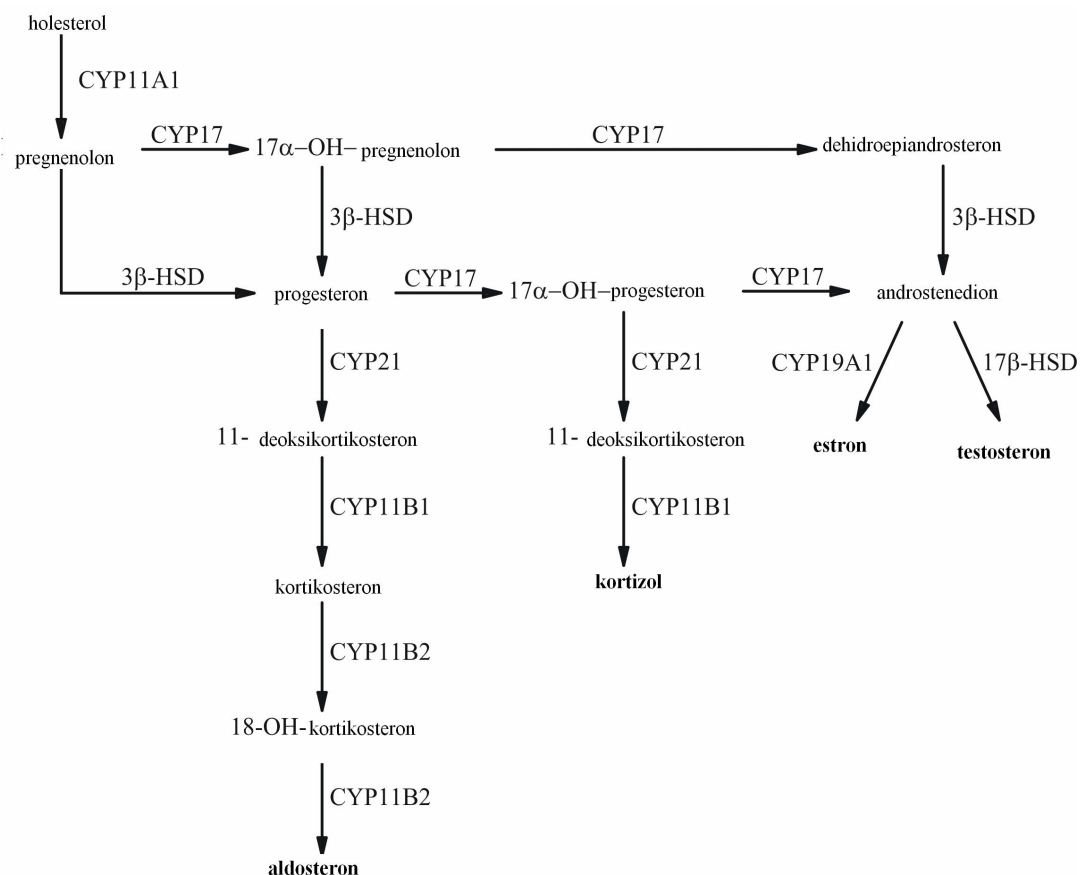


Molekul CRH izolovan je 1981. godine [10]. CRH i njegovi receptori pronađeni su i u mnogim delovima mozga izvan hipotalamusa. Mesta vezivanja CRH pronađena su u raznim perifernim tkivima, kao što je srž nadbubrega, srce, prostata, organi za varenje, jetra, bubrezi i testisi. CRH receptori dele se na dve grupe, označene sa CRH-R1 i CRH-R2 (CRH-R1 je podtip pronađen u hipofizi i rasprostranjen širom mozga, dok se CRH-R2 nalazi uglavnom u perifernim krvnim sudovima, srcu, kao i supkortikalnim strukturama mozga) [5]. Otkriveno postojanje i treće vrste receptora za CRH, za sada samo kod životinja [4]. CRH preko svojih receptora stimuliše sintezu i lučenje ACTH. Hipotalamusna regulacija lučenja ACTH pretpostavljena je kasnih 1940-tih. Struktura ACTH bila je poznata do 1956. godine, a mehanizam njegovog nastajanja tek kasnih 1970-tih [1].

ACTH cirkuliše slobodan u plazmi i brzo napušta opštu cirkulaciju (period poluživota mu je oko 10 minuta). Kataboliše se u mnogim tkivima, prvenstveno u jetri i bubrezima, a izlučuje urinom u zanemarljivim količinama [1].

Putem opšte cirkulacije, ACTH stiže do kore nadbubrežnih žlezda i aktivira svoje receptore (koji se nalaze na membranama ćelija, označeni su sa MC2-R), što dovodi do sinteze i lučenja glukokortikoida, mineralokortikoida i adrenalnih polnih hormona [1] (vidi sliku 2).

Nakon davanja ACTH, u roku od 2 do 3 minuta dolazi do ubrzavanja krvotoka u nadbubrežnim žlezdama i oslobađanja kortizola. Tokom nekoliko sati, povećava se težina nadbubrežnih žlezda, one čak mogu da dupliraju svoju veličinu. U slučaju hronične stimulacije putem ACTH dolazi do hipertrofije i hiperplazije ovih žlezda, a u slučaju deficita ACTH, dolazi do njihove atrofije [1].



Slika 2. Biosinteza steroidnih hormona u kori nadbubrežnih žlezda.

Pošto se kortizol ne skladišti u nadbubrežnim žlezdama, inicijacija sekrecije kortizola pomoću ACTH vrši se pokretanjem njegove sinteze iz holesterola (mehanizmom koji uključuje aktiviranje receptora za ACTH i aktivaciju odgovarajućih gena).

Nakon sinteze, kortizol prelazi u opštu cirkulaciju, gde se vezuje za transportne molekule (albumin ili globulin koji može da veže kortizol, transkortin), a samo 3-10% kortizola u plazmi je slobodno (samo on je fiziološki aktivan) [1].

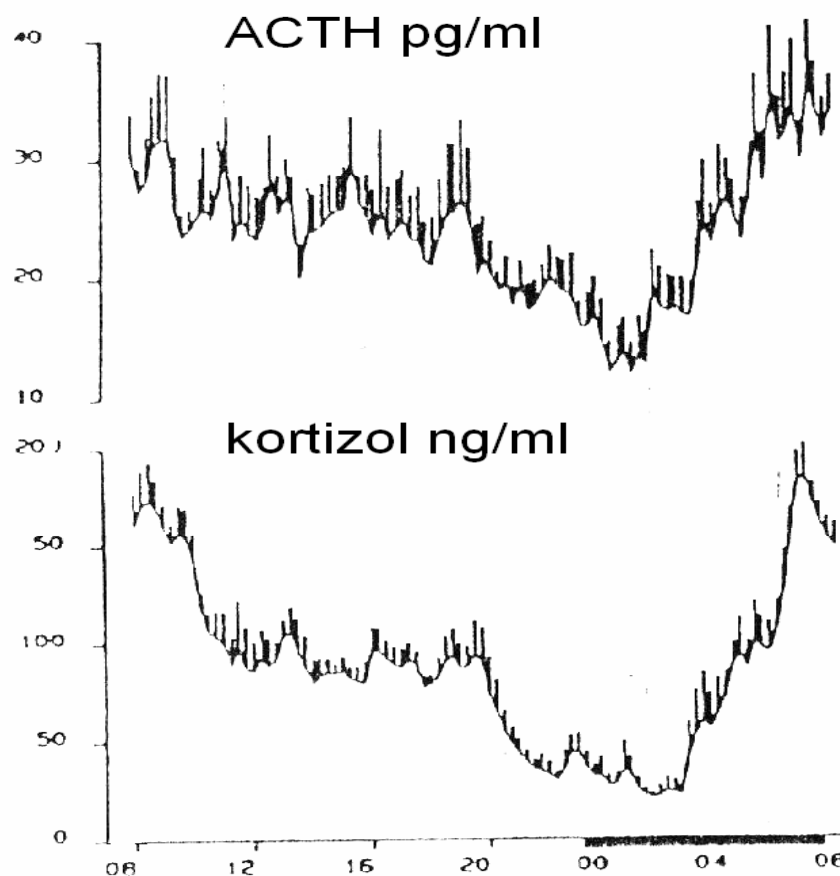
Proteini u plazmi, koji vezuju kortizol, stvaraju rezervoar ovog hormona, zaštićen od metabolizma i izlučivanja putem bubrega, koji može biti oslobođen u ćelije. Ovaj rezervoar značajno produžava poluživot hormona u cirkulaciji, usporava njegovo stvaranje i obezbeđuje izvor hormona kada dođe do pada njegovog stvaranja.

Različita tkiva apsorbuju kortizol iz plazme (period poluživota mu je od 80 do 120 minuta) i on tu ispoljava svoja regulatorna dejstva kao steroidni hormon, odgovoran pre svega za regulisanje metabolizma, odgovor organizma na inflamatorne procese, kao i kontrolu stresne reakcije [1].

Bazalna aktivnost HPA sistema diktirana je konstantnim uticajem “unutrašnjeg biološkog sata”, dela hipotalamusa koji je nazvan suprahijazmatički nukleus (SCN), koji generiše dnevne (ili cirkadijalne) oscilacije ovog, kao i drugih sistema u organizmu [6,7,8]. Unutar-dnevne (ili ultradijalne) oscilacije u sekreciji hormona HPA sistema su takođe prisutne, sa dva do tri pulsa tokom sat vremena (slika 3). Pod dejstvom različitih stresora, aktivnost ovog sistema se drastično povećava, pa pored ultradijalne i cirkadijalne sekrecije, dolazi i do dodatne sekrecije kortizola, tako da njegove vrednosti više puta premašuju uobičajene dnevne vrednosti [2, 9].

Iako su dnevni ritmovi sekrecije CRH, ACTH i kortizola generalno korelisani, nisu svi sekretorni pulsevi kortizola povezani sa pulsevima CRH ili ACTH, kao što ni svi pulsevi ACTH nisu praćeni pulsevima kortizola [2].

Aktivnost HPA sistema ograničena je negativnim povratnim spregama glukokortikoida, u delovima mozga koji poseduju kortikosteroidne receptore i učestvuju u kontroli ovog sistema (najznačajniji su hipokampus i hipotalamus) i u hipofizi. Osim toga, prisutne su i kratka povratna sprega, kojom ACTH inhibira stvaranje CRH, kao i ultrakratke povratne sprege, kojima ACTH i CRH utiču na sopstveno oslobađanje [9, 10, 11, 12].



Slika 3. Dnevni ritam sekrecije ACTH i kortizola [6].

Pošto su lipofilni molekuli, glukokortikoidi lako prolaze kroz membrane svih ćelija u organizmu. Ako neka ćelija poseduje receptore za glukokortikoide, onda ona može biti mesto njihovog delovanja.

Kortikosteroidni receptori se dele na dve vrste: mineralokortikoidne (MR) i glukokortikoidne receptore (GR). MR i GR su nastali od zajedničkog pretka, estrogenskog receptora, pre više od 540 miliona godina [13], pre evolucije aldosterona, i prihvaćeno je mišljenje da je aldosteron evoluirao da bi transaktivirao MR, koji su zadržali afinitet prema glukokortikoidima [14].

GR su prisutni u skoro svim ćelijama u telu, dok su MR nađeni u srcu, mozgu, epitelijalnim ćelijama bubrega, debelom crevu i egzokrinim žlezdama. GR su identifikovani u raznim delovima mozga, ali ih najviše ima u hipotalamusu i hipofizi, dok je raspodela MR ograničenija. Najviše MR u mozgu ima u hipokampusu. Pod

fiziološkim uslovima, glukokortikoidi su sposobni da aktiviraju obe vrste receptora, dok mineralokortikoidi, kao što je aldosteron, aktiviraju MR. Glukokortikoidi imaju deset puta veći afinitet prema MR nego GR, tako da MR bivaju popunjeni prvi [15]. Koegzistencija MR (koji su aktivirani pri niskim koncentracijama kortizola) i GR (koji su aktivirani pri visokim koncentracijama kortizola), omogućava mozgu da različito reaguje u širokom intervalu koncentracija kortizola.

Nakon vezivanja liganda, GR se iz citoplazme premeštaju u jedro ćelije, gde kao homodimeri interaguju sa specifičnim delovima DNK (od engleskog izraza „specific DNA responsive elements“) i time aktiviraju transkripciju odgovarajućih gena.

Aktivirani receptori, osim toga, putem protein-protein interakcija inhibiraju druge transkripcione faktore, koji su pozitivni regulatori transkripcije više gena uključenih u aktivaciju i rast imunih i drugih ćelija. [1-3]. Pored toga, glukokortikoidi menjaju stabilnost informacione RNK (mRNK), a time utiču na biosintezu nekoliko proteina koji reaguju na glukokortikoide, kao i na električni potencijal neurona [11].

Postoji bliska veza između relativne popunjenosti receptora hormonom i relativne jačine glukokortikoidnog hormonskog odgovora, što ukazuje na to da koncentracija receptora ograničava intenzitet odgovora steroidnih hormona (što nije slučaj kod polipeptidnih hormona i kateholamina gde postoje “rezervni” receptori).

Brojni faktori mogu uticati na glukokortikoidni odgovor. Prvo, faktori unutar ćelije mogu modulisati sposobnost vezivanja hormona. Drugo, glukokortikoidi mogu uticati na nivo receptora (obično negativno), ćelijske cikluse i druge faktore. Osim toga, na glukokortikoidni odgovor mogu uticati i drugi hormoni [10-12].

Vezivanje glukokortikoida za njihove receptore ima svojstvo reverzibilnosti. Kada nivo glukokortikoida padne na uobičajene vrednosti, okončava se negativna povratna sprega, hormon se odvaja od receptora, receptor se odvaja od DNK, što dovodi do prestanka transkripcije gena. Međutim, hormonsko dejstvo traje još neko vreme, zbog prisustva mRNK i proteina čiji su nivoi bili povećani usled prisustva hormona.

Glukokortikoidi mogu na dva načina da deluju na ekspresiju gena CRH, u zavisnosti od mesta delovanja. U PVN glukokortikoidi smanjuju ekspresiju gena CRH, dok je u placenti (kod ljudi), centralnom nukleusu amigdale, prednjem režnju kore velikog mozga, moždanom stablu (locus coeruleus) [16] i u hipokampusu

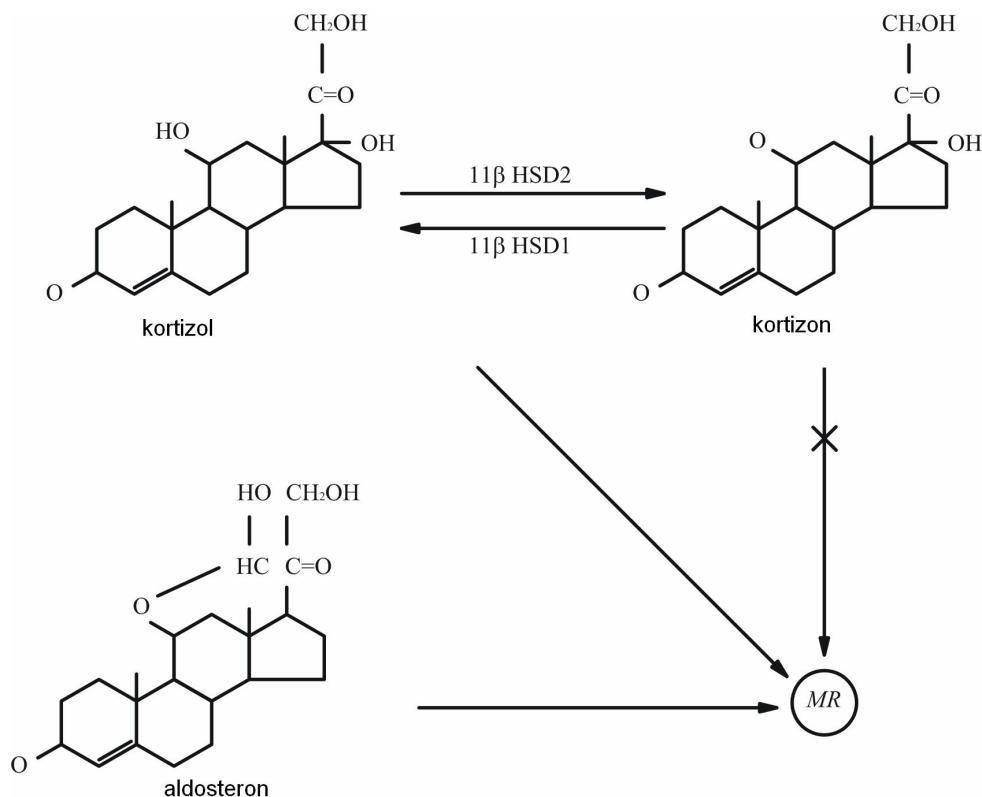
pojačavaju [12]. Zanimljivo je da GR nisu pronađeni u SCN, što sugerira da dnevni ritam ovog sistema ne podleže direktnom uticaju povratne sprege kortizola [6].

GR su pronađeni i u nekim delovima mozga u kojima glukokortikoidi ne utiču na ekspresiju gena CRH [10]. Pitanje "Zašto GR u hipokampusu pojačavaju ekspresiju gena CRH, a u hipotalamusu i hipofizi deluju suprotno?" objašnjeno je delovanjem različitih koaktivatora i korepresora, specifičnih za svako tkivo, koji diktiraju kako će delovati receptori aktivirani kortizolom na ekspresiju jednog te istog gena. Ovi mehanizmi i faktori još nisu u potpunosti objašnjeni.

MR u hipokampusu, za koje je vezan kortizol, pored GR za koje je vezan kortizol u hipotalamusu i hipofizi, vrše negativnu povratnu spregu, kojom se smanjuje pojačana aktivnost HPA sistema, tokom maksimuma dnevnog ritma, kao i nakon dejstva različitih stresora [9, 12, 17]. Pri bazalnim uslovima, kada su nivoi kortikosteroida u normalnim opsezima, u hipokampusu je odnos MR/GR popunjenih kortizolom visok, jer je većina MR popunjena, dok GR nisu. Pri uslovima hroničnog stresa, raste broj GR za koje je vezan kortizol i odnos MR/GR popunjenih kortizolom se smanjuje, dolazi do postepene desenzitizacije, tj. smanjene osetljivosti receptora, MR, koja prethodi GR desenzitizaciji [17].

Ukupan broj kortikosteroidnih receptora, kao i odnos MR/GR, se mnogo razlikuje od tkiva do tkiva, tako da je taj odnos u bubregu 1:2, u epitelu debelog creva 1:3, u ćelijama glatkih mišića arterija 1:30 i 1:1 u hipokampusu [18].

U tkivima sisara dejstva kortikosteroida su regulisana na pre-receptorskom nivou dejstvom dva enzima [15, 19]. U ciljnim tkivima aldosterona (bubreg na primer) prisutan je enzim 11β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 2 (11β -HSD 2), koji transformiše glukokortikoide u metabolite koji imaju slab afinitet prema MR (i GR u manjoj meri). Kod ljudi 11β -HSD 2 konvertuje kortizol u kortizon, dok u ciljnim tkivima kortizola enzim 11β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1 (11β -HSD 1) konvertuje kortizon u kortizol, a može da deluje i u suprotnom smeru, odnosno da konvertuje kortizol u kortizon [20] (slika 4). Inaktivacija kortizola na ovaj način nije dovoljna, jer i pored toga nivoi kortizola ostaju mnogo veći nego nivoi aldosterona (prihvaćeno je mišljenje da su čak i u bubregu MR dominantno popunjeni kortizolom), pa pitanje kako aldosteron deluje preko MR još uvek nije u potpunosti razjašnjeno [21].

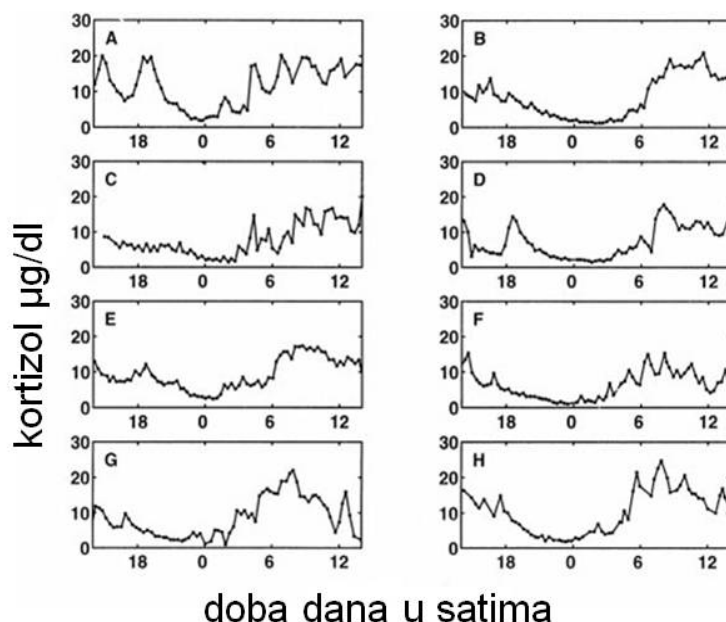


Slika 4. Inaktivacija kortizola delovanjem enzima 11β-HSD 2.

Pošto nalazi studija kod ljudi ukazuju na to da “unutrašnji biološki sat” određuje veći deo dnevnih varijacija nivoa kortizola u plazmi, on se često koristi, zajedno sa telesnom temperaturom i koncentracijom melatonina (hormona koji se luči u odsustvu svetlosti i takodje utiče na ritam spavanja i budnosti) u plazmi, kod proučavanja cirkadijalnog sistema čoveka.

Novorođenčad nemaju u potpunosti utvrđene dnevne ritmove hranjenja i spavanja (što je dobro poznato svim roditeljima), već ih i nakon rođenja formiraju i uče da prespavaju celu noć, najverovatnije kao odgovor na okolna dešavanja, mnogo pre nego što steknu dnevni ritam ACTH i kortizola [1]. Dnevni ritam ACTH i kortizola potpuno je definisan tek posle prve godine života, može da se ne javi do treće, a može da ne bude potpuno utvrđen do osme godine života. Međutim, jednom kada je uspostavljen, ovaj ritam se teško menja i održava se i nakon produženog boravka u postelji, kontinuiranog hranjenja, ili perioda bez sna od dva do tri dana [6]. Pored toga, postoji uočljiva razlika u merenim vrednostima nivoa kortizola među raličitim

ljudima (slika 5), ali kao što je već rečeno, za svakog ponaosob taj ritam se očuvava (tako da imamo tzv. "jutarnje" i "večernje" tipove ljudi, koji se razlikuju po nivoima kortizola tokom dana, prva grupa ima uočljiviji jutarnji skok kortizola i strmiji pad, a druga manje izraženu razliku između maksimuma i minimuma dnevnog ritma, tj. poravnatiji dnevni ritam).



Slika 5. Mereni dnevni profili kortizola dobijeni uzimanjem uzoraka krvi svakih 20 minuta (koncentracije su u $\mu\text{g/dl}$), kod osam zdravih muškaraca [28].

Dnevni ritam ostaje nepromenjen kod ljudi koji rade u smenama, a imaju uobičajen odmor vikendom. Kada neko promeni istovremeno rutinu ishrane, spavanja/buđenja, ciklusa svetla/tame, što se dešava prilikom preseljenja u drugu vremensku zonu, dolazi do resinhronizacije telesnih ritmova i dnevni ritam ACTH i kortizola sporo se menja tokom dve ili tri sedmice [1].

Znači, porast CRH dovodi do skoka ACTH i kortizola, stimuliše oslobađanje kateholamina iz srži nadbubrega, dok endogeni opiodi, oslobođeni takođe pod dejstvom CRH, direktno utiču na oslobađanje adrenalina i noradrenalina iz srži nadbubrega. Adrenalin, noradrenalin i dopamin su važni elementi u reakciji "borbe ili bega". Tokom akutnog stresa, intenzitet i frekvencija sekretornih pulseva se značajno

povećava, što dovodi do promene intenziteta i frekvencije sekretornih epizoda ACTH i kortizola.

Razlike u reagovanju u stresogenim uslovima stižu se, delimično, u ranom životnom dobu i veća negativna iskustva iz tog perioda (prevremeno rođenje, odvajanje od majke, zlostavljanje i sl.) mogu na trajan način da modifikuju receptore za kortikosteroide, što za posledicu ima poremećaje u neuroendokrinoj regulaciji i regulaciji ponašanja [22]. To ukazuje da je rano životno doba jako važno ne samo za formiranje individualnih razlika, već i kao profilaksa protiv poremećaja povezanih sa stresom.

Kora nadbubrežnih žlezda ne skladišti kortikosteroide (mada je njihova koncentracija 100 do 1000 puta veća u kori nadbubrežnih žlezda nego u cirkulaciji, to predstavlja zanemarljiv rezervoar hormona), već ih stvara na zahtev, odnosno dati signal, pa se regulacija sekrecije kortizola vrši primarno na nivou njegove sinteze. To čini ovaj sistem u izvesnoj meri inertnim. Potrebno je nešto više od tri minuta da bi se, posle doživljenog straha npr., povećala koncentracija kortikosteroida koji cirkulišu u krvi. Posle toga povećana koncentracija održava se više desetina minuta [1-3].

Akutno lučenje glukokortikoida iz kore nadbubrega stimuliše metabolizam glukoze, da bi se obezbedila energija za reakciju "borbe ili bega". Međutim, dugotrajno aktiviranje HPA osovine ima štetno dejstvo po organizam i može dovesti do novih, ili pogoršati stanje već postojećih bolesti. Sa povećanjem doze i trajanja izloženosti hipofize glukokortikoidima (npr. kod Cushing-ove bolesti ili dugotrajne terapije glukokortikoidima), hipofiza postaje potpuno neosetljiva čak i na ekstremne stimuluse. Kada se koncentracije glukokortikoida vrate na normalne, oporavak HPA osovine može biti spor i, u zavisnosti od trajanja i doza glukokortikoida, mogu proći i meseci do uspostavljanja njenog normalnog funkcionisanja [1].

Poremećaji rada HPA sistema primećeni su kod raznih oboljenja i mogu se podeliti u dve kategorije (tabela 1) [2].

Tabela 1. Patofiziološka stanja u kojima je zabeležena promena aktivnosti HPA sistema.

Povećana aktivnost HPA sistema	Smanjena aktivnost HPA sistema	Prekinuta aktivnost HPA sistema
Teške hronične bolesti		
Melanholična depresija	Atipična depresija	Cushing-ov sindrom
Anoreksija	Sezonska depresija	Deficit glukokortikoida
Opsesivno-kompulsivni poremećaj	Fibromegalija	Glukokortikoidna rezistencija
Napadi panike	Hipotiroidizam	
Hronično preterano fizičko vežbanje	Adrenalna supresija	
Gladovanje	Nakon terapije glukokortikoidima	
Dijabetes	Nakon doživljenog stresa	
	Nakon ostavljanja duvana	
	Nakon porođaja	
Hipertiroidizam	Menopauza	
Gojaznost	Reumatoidni artritis	
Seksualno zlostavljanje u detinjstvu		
Trudnoća		

Jedna grupa poremećaja je povezana sa povećanom i produženom aktivnošću HPA sistema (melanholična depresija, napadi panike, obsesivno-kompulsivni poremećaj, anoreksija, hronični alkoholizam, hipertiroidizam, loše kontrolisan dijabetes, apstinencijalna kriza kod pušača i alkoholičara, itd.), a druga obuhvata bolesti sa smanjenom aktivnošću (kao što su hipotiroidizam, atipična depresija, sindrom hroničnog umora, posle-porođajna depresija i posttraumatski stresni sindrom) [2].

Izgleda da CRH ima presudnu ulogu u patofiziologiji ovih poremećaja [8, 28]. Pomeraj od uobičajene aktivacije, do uočljive disregulacije HPA sistema (povezan sa psihičkim i fizičkim poremećajima), još je nerazjašnjen, tako da etiologija i tretman tih poremećaja ostaju predmet daljih istraživanja [24, 25].

2. MODELOVANJE HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNOG SISTEMA

Predloženi su različiti matematički modeli koji opisuju kompleksne autoregulacione hormonske [27-32], ili genski regulisane sisteme koji ispoljavaju dnevne oscilacije [33-40].

Eksperimentalno proučavanje bioloških sistema, a naročito kompleksnih neuroendokrinih sistema kao što je HPA sistem, najčešće je povezano sa nizom teškoća. Uopštavanje rezultata dobijenih u eksperimentima sa životinjama na ljude nije uvek moguće i može dati pogrešne rezultate. Neuroanatomski i neurohemijski efekti CRH, ACTH i kortizola mogu se proučavati samo do izvesne mere egzogenim davanjem hormona i njihovih agonista i antagonista. Osim toga u biološkim sistemima javlja se dobro poznat "domino" efekat, pa se često ne mogu tačno razdvojiti uzrok i posledica neke pojave. Zbog svega toga, različite metode proučavanja bioloških sistema mogu imati koristi od primene matematičkog modelovanja.

Opis dnevnih varijacija kortizola zahteva modelovanje cirkadijalnih i necirkadijalnih komponenti koje ih određuju. Biohemijska i fiziološka istraživanja kod ljudi ukazuju da dnevni ritam određuju primarno sledeća tri faktora:

- 1) dvadesetčetvoro-časovna kontrola amplituda sekretornih pulseva (pod uticajem SCN);
- 2) unutar-dnevni pulsevi sekrecije hormona (pod uticajem povratnih sprega unutar HPA sistema);
- 3) spoljni uticaji.

Osim ovoga, treba uzeti u obzir i kinetiku sinteze kortizola, njegovog lučenja u opštu cirkulaciju i eliminisanja iz plazme putem jetre, kao i grešku merenja nivoa kortizola u plazmi (najmanja koncentracija kortizola koja se može izmeriti je 0.05 µg/l).

Kompletan matematički opis dnevnog ritma kortizola trebalo bi da obuhvati sve neuroendokrine povratne pozitivne i negativne sprege između hipotalamusa, hipofize i kore nadbubrega, kao i uticaje spoljnjih faktora, kao što su različiti stresori,

spavanje, uzimanje obroka itd. Simultano merenje svih varijabli neophodnih za formulisanje takvog modela kod ljudi nije moguće, a kod ostalih vrsta je samo delimično moguće.

Umesto pokušaja da se uzmu u obzir sve veze datog sistema, moguć je i drugi pristup, da se na osnovu poznate fiziologije pokuša formulisati minimalni model koji bi dovoljno dobro opisivao utvrđeni dnevni ritam. Minimalni model može da opisuje samo jedan deo celog procesa, tako da može biti više različitih minimalnih modela, koji bi zajedno trebali da opišu ceo proces.

Ukoliko bi minimalni model mogao da odredi individualne razlike, onda bi te informacije mogle pomoći u određivanju individualnih i populacionih karakteristika, pri normalnim uslovima i kod različitih oboljenja. Minimalni model mogao bi takođe i da odredi uslove i ograničenja nekog sveobuhvatnijeg modela.

U ovom poglavlju ukratko je prikazano nekoliko postojećih modela HPA sistema, radi ilustracije do sada u literaturi objavljenih rezultata iz ove oblasti. Ove modele možemo podeliti na nestehiometrijske, kod kojih se povratne sprege prisutne u sistemu uvode direktno u odgovarajuće diferencijalne jednačine, dodavanjem jednog ili više linearnih ili nelinearnih članova, i na stehiometrijske modele, zasnovane na hemijskim reakcijama prisutnim u sistemu, gde se članovi koji opisuju povratne sprege javljaju prirodno, kao posledica dinamike sistema.

Objavljeni matematički modeli HPA sistema:

1. Dempsher i ostali (1984.g.) objavili su model sastavljen od 12 diferencijalnih jednačina prvog reda, sa 44 parametra, kojim su opisali sintezu kortizola, iz holesterola, izazvanu dejstvom ACTH [41]. Stvaranje CRH i njegov uticaj na stvaranje ACTH nije razmatran. Uvedena je fenomenološka konstanta K , koja opisuje dnevni ritam oscilovanja ovog sistema, tj. njena vrednost tokom dana ima jedan maksimum i jedan minimum. Jednačine su rešene numerički i dobijen je dnevni ritam sa unutar-dnevnim oscilacijama, u skladu sa merenim vrednostima koncentracije kortizola u plazmi. Ovaj model čine sledeće jednačine (2.1):

$$\begin{aligned}
 \frac{d(cAMP)}{dt} &= \frac{V_{msm}(K_0)(1 + K_b^* ACTH)}{(1 + K_a^* ACTH) + K_0(1 + K_b^* ACTH)} - \frac{V_{dsm}(cAMP)}{K_{dsm} + cAMP} \\
 IS &= \frac{K(C_{rpt})(cAMP)^n}{(K_d)^n + (cAMP)^n} \\
 \frac{dV}{dt} &= P(IS) - Q(V) \\
 \frac{dW}{dt} &= T(CHOC) - 1 - U(W) \\
 \frac{d(CHOC)}{dt} &= V + W + L_{mtr}(CHOM) - K_{mtr}(CHOC) \\
 \frac{d(CHOM)}{dt} &= K_{mtr}(CHOC) + K_{bac}(CHON) + K_{cf}(CHOL) - \\
 &\quad - L_{mtr}(CHOM) - K_{cb}(CHOM) - K_{for}(CHOM) \\
 \frac{d(CHOL)}{dt} &= K_{cb}(CHOM) - K_{cf}(CHOL) \\
 \frac{dK_{mtr}}{dt} &= C(IS) - D(K_{mtr}) \\
 \frac{dK_{for}}{dt} &= R(IS) - S(K_{for}) \\
 \frac{d(CHON)}{dt} &= K_{for}(CHOM) - K_{bac}(CHON) - \frac{V_m(CHON)}{K_m + (CHON)} \\
 \frac{d(PREG)}{dt} &= \frac{V_m(CHON)}{K_m + (CHON)} - \frac{V_{mptr}(PREG)}{K_{mptr} + (PREG)} \\
 \frac{d(PRO)}{dt} &= \frac{(HA)V_{mptr}(PREG)}{K_{mptr} + (PREG) - AH(PRO)} \\
 \frac{d(HYPR)}{dt} &= AH(PRO) - HY(HYPR) \\
 \frac{d(CORT)}{dt} &= HY(HYPR) - LH(CORT)
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

gde su uvedene oznake:

V_{msm}	maksimalna brzina promene koncentracije adenil ciklaze (cAMP)
K_0	konstanta ravnoteže povezana sa stanjem receptora A i B enzima
K_a	konstanta ravnoteže vezivanja ACTH i receptora u stanju A
K_b	konstanta ravnoteže vezivanja ACTH i receptora u stanju B
V_{dsm}	maksimalna brzina degradacije cAMP
K_{dsm}	Michaelis-ova konstanta degradacije cAMP
C_{rpt}	broj mesta vezivanja cAMP receptora (stavljeno da je $C_{rpt} = 3$)

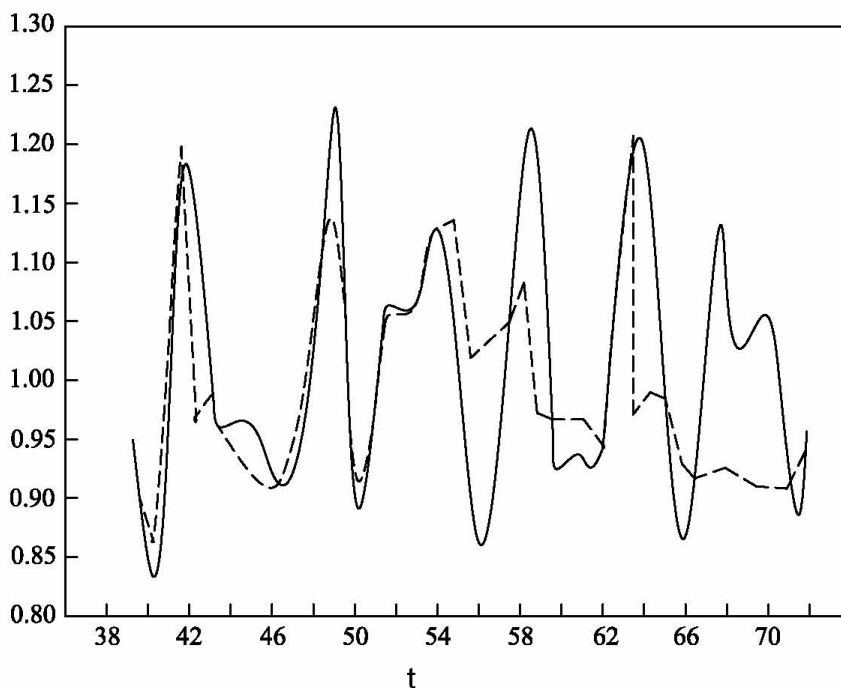
K_d	konstanta disocijacije cAMP
$cAMP$	koncentracija adenil ciklaze
n	Hill-ov koeficijent (stavljeno je $n=5$)
V	fluks holesterola u rezervoar slobodnog holesterola (CHOC)
P i Q	konstante koje određuju brzinu aktivacije V
W	fluks slobodnog novonastalog holesterola
T i U	konstante koje određuju brzinu aktivacije W
$CHOC$	slobodan citosolski holesterol
K_{mtr} i L_{mtr}	konstante brzine direktne i povratne reakcije konvertovanja CHOC u slobodni mitohondrijalni holesterol (CHOM)
$CHON$	mitohondrijalni holesterol u blizini enzima koji deluje na bočni lanac
$CHOM$	mitohondrijalni slobodni holesterol, koji je postao dostupan delovanjem ACTH
K_{bac} , K_{cf} i K_{cb}	konstante brzine prelaska CHOL u CHON, CHOM i CHOL
K_{for}	konstanta brzine za fluks holesterola na enzim koji deluje na bočni lanac
C i D	konstante brzine direktne i povratne reakcije ubrzavanja K_{mtr} pod dejstvom cAMP
R i S	konstante brzine direktne i povratne reakcije ubrzavanja K_{for} pod dejstvom cAMP
V_m i K_m	kapacitet tkiva i Michaelis-ova konstanta za transport pregnelonona
AH , HY i LH	konstante brzina u reakciji stvaranja kortizola iz pregnelonona
HA	deo pregnelonona koji se transformiše u kortizol
K	fenomenološka konstanta, koja povezuje unutar ćelijski signal (IS) i količinu cAMP vezanog za njegove receptore, menja se tokom dana, tako da joj je najveća vrednost između 5 i 8 časova ujutro, a najmanja između 20 i 23 časa.

2. Lenbury i Pacheenburawana (1991. g.) su predložili model sastavljen od tri nelinearne diferencijalne jednačine sa eksponencijalnim članom koji opisuje kortizolsku negativnu povratnu spregu [42]. Koncentracije CRH, ACTH i kortizola u plazmi u trenutku t označene su sa $X(t)$, $Y(t)$ i $Z(t)$ respektivno, a njihove srednje

dnevne vrednosti označene su sa X_0 , Y_0 i Z_0 . Dat je sledeći sistem običnih diferencijalnih jednačina (2.2):

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= \alpha \exp[a(1-z^2) + b(1-y^2)] - \alpha x + D \cos(wt) \\ \frac{dy}{dt} &= \beta x \exp[b(1-z^2)] - \beta y \\ \frac{dz}{dt} &= \gamma y - \gamma z\end{aligned}\quad (2.2)$$

gde je $x = \frac{X}{X_0}$, $y = \frac{Y}{Y_0}$ i $z = \frac{Z}{Z_0}$. Parametri α , β i γ opisuju kapacitet sekrecije odgovarajućeg hormona, a član $D \cos(wt)$ opisuje periodičan uticaj signala nervnog sistema. Urađena je analiza stabilnosti, kao i kompjuterska simulacija (slika 6), i pokazano je da ovaj sistem diferencijalnih jednačina može da ima periodično rešenje, a moguće je i haotično ponašanje, za određene oblasti parametara sistema.



Slika 6. Simulirani (puna linija) i mereni nivo ACTH (isprekidana linija) [42].

3. Gonzalez-Heydrih i ostali (1994. g.) su formulisali model HPA sistema i na osnovu njega izvršili kompjutersku simulaciju rada HPA sistema [43]. Kao najbitniju negativnu povratnu spregu oni su uzeli povratnu spregu, kojom kortizol koči stvaranje ACTH, a koja se ostvaruje preko glukokortikoidnih receptora u hipofizi. Model čine sledeće diferencijalne jednačine

$$\begin{aligned}\frac{dcortisol}{dt} &= k_1 ACTH + k_2 - k_3 cortisol \\ \frac{dACTH}{dt} &= k_4 CRH + k_5 - k_6 ACTH + \frac{I_{max} cortisol (k_4 CRH + k_5)}{K_d + cortisol} \\ \frac{dCRH}{dt} &= f(t) + k_7 - k_8 CRH\end{aligned}\quad (2.3)$$

gde je $f(t)$ pulsna funkcija, koja opisuje uticaj viših nervnih centara na stvaranje CRH, I_{max} je saturacioni nivo inhibicije, a K_d konstanta disocijacije kortizola i glukokortikoidnih receptora. Ovaj model simulirao je uspešno nivoe ACTH i kortizola nakon davanja CRH (ovčijeg), pacijentima sa normalnim nivoima kortizola i pacijentima sa hiperkortizolemijom.

4. Gonzalez-Heydrih i ostali (1999. g.) opisali su upotrebu numeričkih programa i Monte Carlo metoda u određivanju parametara modela hipofizno-nadbubrežne osovine, dobijenih eksperimentalnim merenjem [44]. Razmatrana su četiri modela ACTH-kortizol osovine, CRH nije uključen u model eksplicitno. U polaznom, najjednostavnijem, modelu stvaranje kortizola direktno je srazmerno nivou ACTH u plazmi i nije opisana bazalna sekrecija kortizola, nezavisna od ACTH:

$$\frac{d[cort]}{dt} = K_{stim}[ACTH] - K_{elim}[cort] \quad (2.4)$$

gde je K_{stim} konstanta brzine koja opisuje rast brzine stvaranja kortizola sa rastom nivoa ACTH u plazmi, a K_{elim} je konstanta brzine trošenja kortizola. Da bi se model usložnio, u sledećem koraku uvedena je konstanta $K_{baseline}$ koja opisuje stvaranje kortizola nezavisno od ACTH:

$$\frac{d[cort]}{dt} = K_{baseline} + K_{stim}[ACTH] - K_{elim}[cort] \quad (2.5)$$

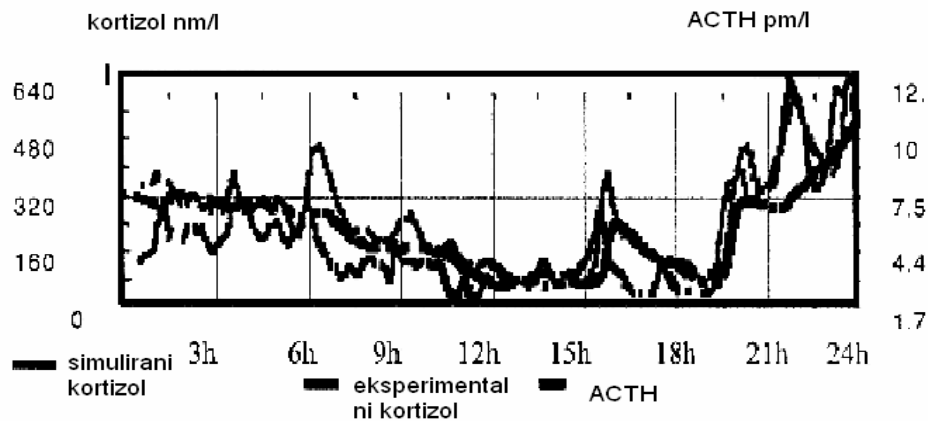
U trećoj varijanti modela, umesto drugog člana gornje jednačine uveden je član koji opisuje sekreciju kortizola u zavisnosti od toga koliko receptora za ACTH je okupirano:

$$\frac{d[cort]}{dt} = K_{baseline} + \frac{E_{max} [ACTH]}{K_d + [ACTH]} - K_{elim}[cort] \quad (2.6)$$

pri čemu E_{max} opisuje stimulaciju sekrecije kortizola kada su svi receptori za ACTH popunjeni, a K_d je ravnotežna konstanta disocijacije za receptore za ACTH. Poslednja, najsloženija varijanta modela se od prethodne razlikuje po tome što su uvedena dva člana koja opisuju vezivanje ACTH za dve vrste njegovih receptora:

$$\frac{d[cort]}{dt} = K_{baseline} + \frac{E_{max1} [ACTH]}{K_{d1} + [ACTH]} + \frac{E_{max2} [ACTH]}{K_{d2} + [ACTH]} - K_{elim}[cort] \quad (2.7)$$

Ove diferencijalne jednačine rešene su numerički (slika 7) i utvrđeno je da ACTH ima veći uticaj na sekreciju kortizola za vreme maksimuma, nego za vreme minimuma dnevnog ritma sekrecije kortizola.



Slika 7. Simulacija nivoa kortizola, dobijena upotrebom (6.7).

5. Chakraborty i ostali (1999. g.) su razmatrali brzinu sekrecije kortizola i supresiju brzine sekrecije kortizola, usled davanja veštačkog kortikosteroida (pod nazivom fluticasone propionate) [45]. U odsustvu leka, promenu brzine sekrecije kortizola (R_{CORT}) opisali su jednačinom:

$$\frac{dR}{dt} = R_{CORT}(t) - k_{out} R \quad (2.8)$$

a u prisustvu datog kortikosteroida:

$$\frac{dR}{dt} = R_{CORT}(t) \left(1 - \frac{I_{max} C}{C + IC_{50}} \right) - k_{out} R \quad (2.9)$$

gde je k_{out} konstanta eliminacije kortizola, IC_{50} je koncentracija leka koja izaziva 50% od maksimuma supresije R_{CORT} , R je odgovor (koncentracija kortizola), a I_{max} je maksimalna frakcija inhibicije R_{CORT} i stavljeno je $I_{max}=1$ da bi se opisala kompletna supresija. Šest različitih funkcija R_{CORT} uvršteno je u gornje dve jednačine da bi se opisale koncentracije kortizola u bazalnim uslovima i nakon inhalacije jedne doze leka. Prvo je brzina sekrecije kortizola opisana jednostavnom kosinusnom funkcijom:

$$R_{CORT}(t) = R_m + R_{amp} \cos\left(\frac{2 \pi (t - t_2)}{24}\right) \quad (2.10)$$

gde je R_m srednja brzina sekrecije kortizola, R_{amp} je amplituda brzine sekrecije a t_2 je akrofaza, koja definiše maksimum brzine sekrecije (za $t=t_2$, $\cos 0=1$, $R_{CORT}(t) = R_m + R_{amp}$; a za $t=t_2 \pm 12$, $\cos \pi = -1$, $R_{CORT}(t) = R_m - R_{amp}$; $R_m \geq R_{amp}$). Nakon toga R_{CORT} je dalje usloznjavano, tako što je dnevni ritam podeljen na dva dela, koja se odvojeno opisuju različitim matematičkim funkcijama, jedan u kome koncentracija kortizola raste, a drugi u kome opada, ali dalji prikaz tih jednačina izlazi iz okvira ovog rada.

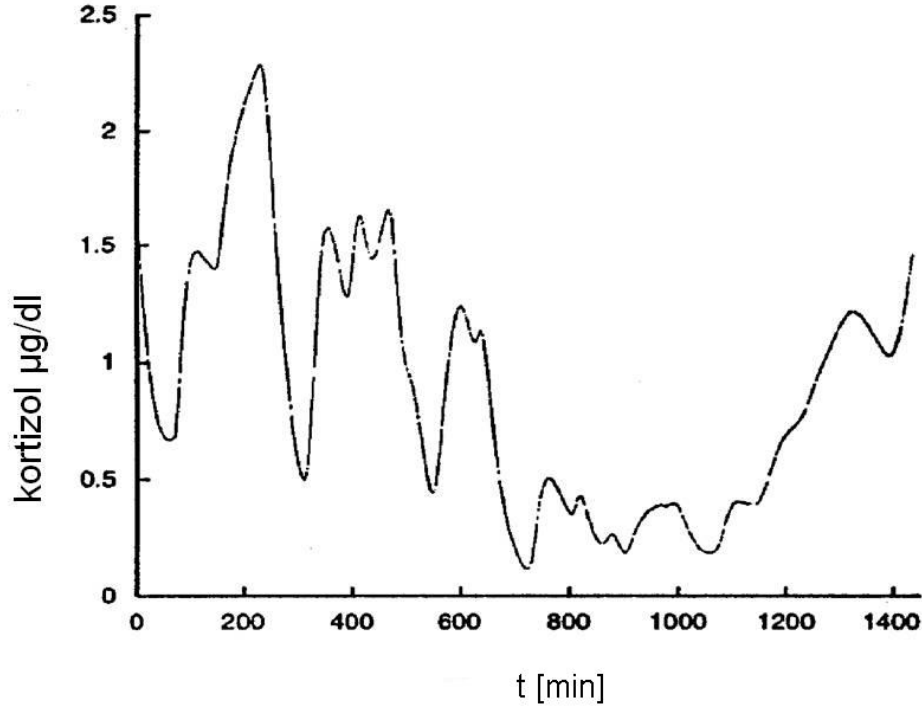
6. Dokoumetzidis i ostali (2002. g.) opisuju sekreciju kortizola jednom diferencijalnom jednačinom sa kašnjenjem sastavljenom od dva člana, prvi opisuje pulsatilnu sekreciju kortizola pod dejstvom negativne povratne sprege i unutrašnjeg biološkog sata, a drugi opisuje trošenje kortizola [46]:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 \frac{a^n C_d}{a^n + C_d^n} - k_2 C \quad (2.11)$$

gde je C koncentracija kortizola, C_d je vrednost C u trenutku $t-T$, n je eksponent, k_1 i k_2 su vrednosti konstanti brzina reakcija stvaranja i trošenja kortizola. Dnevni ritam sekrecije kortizola uveden je fenomenološki, tako što je uzeto da se vrednost parametra a iz gornje jednačine menja tokom 24 časa:

$$a = A \cos \left[(t - f) \frac{2\pi}{1440} \right] + B \quad (2.12)$$

gde su f , A i B konstante, a t je vreme izraženo u minutima. Urađena je kompjuterska simulacija i dobijen je dnevni i unutar-dnevni ritam u saglasnosti sa eksperimentalnim podacima (slika 8).



Slika 8. Numerička simulacija dobijena na osnovu jednačina (2.11) i (2.12).

7. Kyrlov i saradnici (2005. g.) su formulisali model HPA sistema [47] uzimajući u obzir i vezivanje kortizola za proteine, transportere kortizola, u plazmi. U njihovom modelu promenljive veličine su koncentracije CRH, ACTH, slobodnog kortizola, kortizola vezanog za globulin i kortizola vezanog za albumin, označene sa x_0, x_1, x_2, x_3 i x_4 respektivno. Model čini pet diferencijalnih jednačina sledećeg oblika

$$\begin{aligned}
 \frac{dx_0}{dt} &= b_{00}x_0 + b_{02}x_2 + d_0 \\
 \frac{dx_1}{dt} &= b_{10}x_0 + b_{11}x_1 + b_{12}x_2 \\
 \frac{dx_2}{dt} &= b_{20}x_0 + b_{21}x_1 + b_{22}x_2 + b_{23}x_3 + b_{24}x_4 \\
 \frac{dx_3}{dt} &= b_{32}x_2 + b_{33}x_3 \\
 \frac{dx_4}{dt} &= b_{42}x_2 + b_{44}x_4
 \end{aligned} \tag{2.13}$$

gde su b_{ij} ($i, j=0, 1, \dots, 4$) koeficijenti stvaranja i trošenja hormona, a d_0 opisuje spoljašnji uticaj na sekreciju CRH. Dobijen je unutardnevni ritam rada HPA sistema, na koji je

zatim dodat spoljni aktivator, odnosno periodična kosinusna funkcija koja diktira dnevni ritam. Svrha ovog modela bila je stvaranje modela HPA sistema i njegovo uklapanje u kompjuterski simulator rada ljudskog organizma, radi obuke studenata medicine.

8. Model Savić i Jelić (2005. g.) [48,49] opisuje HPA sistem pomoću tri diferencijalne jednačine oblika

$$\begin{aligned}\frac{dX(t)}{dt} &= k_1(1 - \eta \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)}) - k_2X(t) \\ \frac{dY(t)}{dt} &= k_2X(t) - k_3Y(t) \\ \frac{dZ(t)}{dt} &= k_3Y(t) - k_4Z(t)\end{aligned}\tag{2.14}$$

Sa $X(t)$ obeležena je koncentraciju CRH, sa $Y(t)$ koncentracija ACTH, a sa $Z(t)$ koncentracija kortizola. Rešenje ovog sistema je asimptotski stabilan fokus, tj. analizom stabilnosti utvrđeno je da se ne dobijaju unutarodnevnoscilacije kortizola. Model je dalje modifikovan uvođenjem vremenskih kašnjenja [50]

$$\begin{aligned}\frac{dX(t)}{dt} &= k_1(1 - \eta \frac{Z(t - \tau_1)}{K_d + Z(t - \tau_1)}) - k_2X(t) \\ \frac{dY(t)}{dt} &= k_3X(t - \tau_2) - k_4Y(t) \\ \frac{dZ(t)}{dt} &= k_5Y(t - \tau_3) - k_6Z(t)\end{aligned}\tag{2.15}$$

kao i opisivanjem negativne povratne sprege kortizola na nivou hipofize

$$\begin{aligned}\frac{dX(t)}{dt} &= k_1(1 - \eta \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)}) - k_2X(t) \\ \frac{dY(t)}{dt} &= k_3(1 - \xi \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)})X(t) - k_4Y(t) \\ \frac{dZ(t)}{dt} &= k_5Y(t) - k_6Z(t)\end{aligned}\tag{2.16}$$

A zatim je i u ovu varijantu modela uvedeno kašnjenje u stvaranju kortizola

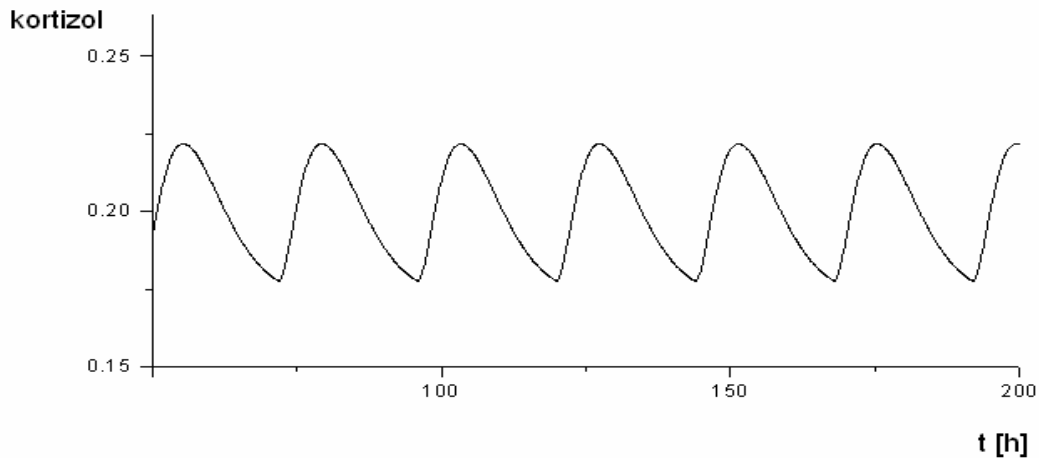
$$\begin{aligned}\frac{dX(t)}{dt} &= k_1 \left(1 - \eta \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)}\right) - k_2 X(t) \\ \frac{dY(t)}{dt} &= k_3 \left(1 - \xi \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)}\right) X(t) - k_4 Y(t) \\ \frac{dZ(t)}{dt} &= k_5 Y(t - \tau) - k_6 Z(t)\end{aligned}\quad (2.17)$$

Nakon više izvršenih modifikacija modela stacionarno stanje sistema je i dalje bilo asimptotski stabilan fokus, pa je zaključeno da ni ovakav model ne daje oscilacije nivoa kortizola.

Zatim je uveden pulsni aktivator, označen sa S, da bi se opisao dnevni ritam sekrecije kortizola, tj uticaj SCN na rad HPA sistema.

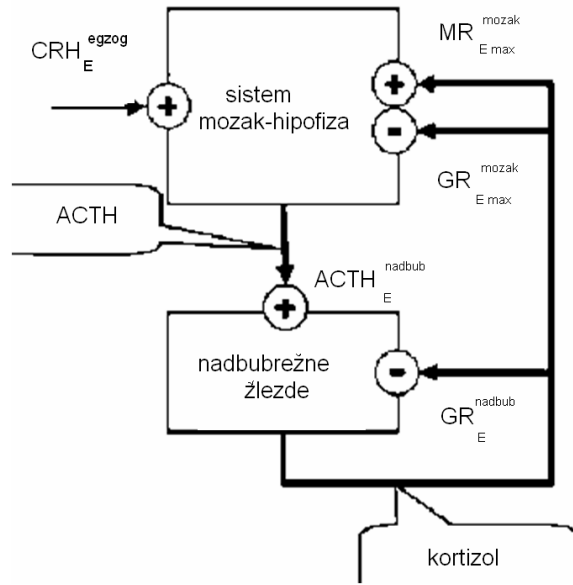
$$\frac{dX(t)}{dt} = S \cdot k_1 \cdot \left(1 - \eta \cdot \frac{Z(t)}{K_d + Z(t)}\right) - k_2 \cdot Y(t) \quad (2.18)$$

Izvršene su numeričke simulacije i dobijen je dnevni ritam rada HPA sistema sledećeg oblika (slika 9)



Slika 9. Kompjuterska simulacija rada HPA sistema, dobijena numeričkim rešavanjem polaznog modela (2.14) sa vremenski zavisnim dnevnim aktivatorom sekrecije CRH.

9. **Peters i saradnici (2007. g.)** [51] su prepostavili da MR u hipokampusu aktiviraju HPA sistem, a da GR u hipokampusu imaju inhibitornu ulogu (slika 10), što je suprotno našim pretpostavkama i rezultatima iz literature koje smo mi prihvatili.



Slika 10. HPA sistem prikazan kao dvokomponentni sistem koji čine mozak/hipofiza i nadbubrežne žlezde.

Na osnovu ovakvog viđenja HPA sistema, formulisani su modeli koji čine dve diferencijalne jednačine sa kašnjenjem (2. 19)

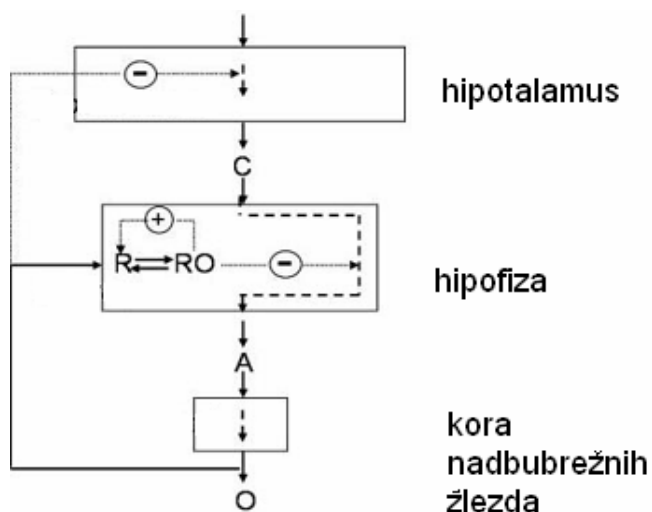
$$\begin{aligned} \frac{dACTH(t)}{dt} &= c_1 \cdot ACTH(t) + \frac{MR_{E \max}^{brain} \cdot CORT(t - \tau_1)}{CORT(t - \tau_1) + r \cdot MR_{EC50}} - \frac{GR_{E \max}^{brain} \cdot CORT(t - \tau_1)}{CORT(t - \tau_1) + r \cdot GR_{EC50}} + CRH_E^{exog} \cdot e_1(t) \\ \frac{dCORT(t)}{dt} &= c_2 \cdot CORT(t) + ACTH_E^{adrenal} \cdot ACTH(t - \tau_2) - GR_E^{adrenal} \cdot CORT(t - \tau_1) + s \cdot e_2(t) \end{aligned} \quad (2.19)$$

Gde su sa c_1 i c_2 označeni koeficijenti eliminacije iz plazme ACTH i kortizola, s je faktor koji opisuje dotok spoljnog kortizola, r je odnos slobodnog i vezanog kortizola u plazmi, $e_1(t)$ i $e_2(t)$ opisuju spoljnji uticaj na nivo ACTH i kortizola u plazmi, τ_1 i τ_2 su

vremenska kašnjenja, $MR_{E\max}^{brain}$ je maksimalna efikasnost dejstva kortizolom popunjenih MR u mozgu/hipofizi na sekreciju ACTH, $GR_{E\max}^{brain}$ je maksimalna efikasnost dejstva kortizolom popunjenih GR u mozgu/hipofizi na sekreciju ACTH, $ACTH_E^{adrenal}$ je maksimalna efikasnost dejstva ACTH na sekreciju kortizola, $GR_E^{adrenal}$ je maksimalna efikasnost dejstva kortizolom popunjenih GR u nadbubrežnim žlezdama na sekreciju kortizola, MR_{EC50} je koncentracija slobodnog kortizola koja izaziva pola maksimalnog MR odgovora na ACTH, a GR_{EC50} je koncentracija slobodnog kortizola koja izaziva pola maksimalnog GR odgovora na ACTH.

Na osnovu njih izvršena je numerička simulacija rada HPA sistema. Zaključeno je da sistem može da se stabilizuje uz pomoć pozitivne povratne sprege, tj da je njegovo stacionarno stanje asimptotski stabilan fokus. Sekrecija CRH nije razmatrana u ovom modelu, već je uzeto da se ona ogleda u sekreciji ACTH i govori se o dvokomponentnom sistemu, koji cine mozak/hipofiza i nadbubrežne žlezde. Pošto GR u mozgu deluju različito, zavisno od lokacije, razmatranje mozga/hipofize kao celine možemo navesti kao jedan od nedostataka ovog modela.

10. Gupta i saradnici (2007. g.) [52] objavili su interesantan nelinearni model HPA sistema, uzimajući u obzir homodimerizaciju kortizolom popunjenih GR u hipofizi (vidi sliku 11),



Slika 11. Homodimerizacija kortizolom popunjenih GR u hipofizi dovodi do porasta broja GR i utiče na rad HPA sistema [52].

dobijajući na taj način bistabilnost sistema, kao rezultat pozitivne povratne sprege kojom kortizolom popunjeni GR utiču na dalje stvaranje GR u hipofizi.

$$\begin{aligned}\frac{dc}{dt} &= \frac{k_c + f}{1 + \frac{o}{k_{i1}}} - k_{cd}c \\ \frac{da}{dt} &= \frac{k_a c}{1 + \frac{or}{k_{i2}}} - k_{ad}a \\ \frac{dr}{dt} &= \frac{k_r (or)^2}{k + (or)^2} + k_{cr} - k_{rd}r \\ \frac{do}{dt} &= k_o a - k_{od}o\end{aligned}\tag{2.20}$$

Sa c , a , r i o označeni su CRH, ACTH, GR u hipofizi i kortizol. Dnevni ritam stvaranja kortizola opisuje član k_c , uticaj stresora opisuje član f , $k_{i1,2}$ su koeficijenti inhibicije kortizolom, k_{cd} , k_{ad} , k_{od} su koeficijenti eliminacije CRH, ACTH i kortizola, dok je sa k_o označen koeficijet stvaranja kortizola. U jednačini koja opisuje dinamiku GR u hipofizi k je ravnotežni koeficijent dimerizacije kortizolom popunjenih GR u hipofizi, k_{cr} opisuje stvaranje, a k_{rd} degradaciju GR u hipofizi.

Kortizol popunjavanjem GR u hipofizi u ovom modelu dovodi do skoka GR u hipofizi i jačanja negativne povratne sprege u hipofizi, tj smanjenja sekrecije ACTH i smanjenja dalje sekrecije kortizola, a nakon toga i slabljenja negativne sprege kortizola na nivou hipotalamusa. Sistem ima dva stabilna stacionarna stanja (jedno sa nižom i jedno sa povišenom koncentracijom GR u hipofizi) i jedno nestabilno, između prva dva. Urađene su numeričke simulacije akutnog i hroničnog dejstva stresora. Stabilno stanje sa niskom koncentracijom GR odgovara normalnom funkcionisanju HPA sistema, jer se sistem nakon perturbacije vraća u osnovno stanje, a stanje sa povišenom koncentracijom GR u hipofizi predstavlja patološko stanje sistema i dovodi do hipokortizolemije pri većim perturbacijama ili hroničnom dejstvu stresora.

Kao eventualni nedostatak mozemo reći da u ovom modelu nisu eksplicitno razmatrani GR u hipotalamusu, ni višim nervnim centrima, kao ni MR, no kako i sami autori kažu, cilj ovog rada nije bio da se homodimerizacijom GR u hipofizi objasni u

potpunosti oscilatorna sekrecija kortizola, jer osim homodimerizacije, postoje i drugi bitni mehanizmi koji određuju rad HPA sistema.

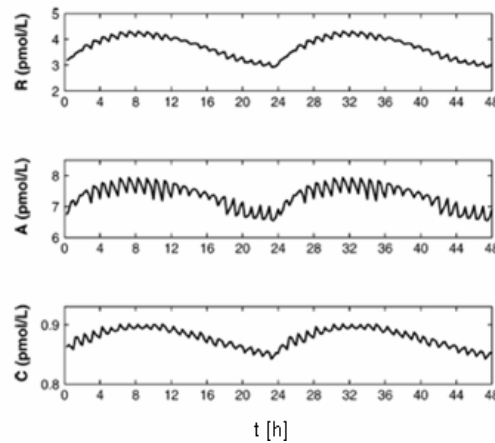
11. Bairagi i saradnici (2008. g.) [53] su formulisali model rada HPA sistema u obliku tri diferencijalne jednačine sa kašnjenjem

$$\begin{aligned}\frac{dR(t)}{dt} &= \frac{\alpha_1 V}{K + C^m(t - \tau_1)} - b_1 R(t) \\ \frac{dA(t)}{dt} &= \frac{\alpha_2 V}{K + C^m(t - \tau_2)} + g_1 R(t) - b_2 A(t) \\ \frac{dC(t)}{dt} &= g_2 A(t - \tau_2) - b_3 C(t)\end{aligned}\quad (2.21)$$

Sa $R(t)$, $A(t)$ i $C(t)$ označene su koncentracije CRH, ACTH i kortizola, τ_1 i τ_2 su vremena kašnjenja, $\alpha_1, \alpha_2, K, C, V, b_1, b_2, g_1, g_2$ su pozitivni parametri, m je Hill-ov koeficijent. Urađena je analiza stabilnosti i pokazano da se u sistemu javljaju unutardnevne oscilacije, a model ne daje dnevni ritam. Dnevni ritam uveden je zatim u obliku sledeće periodične funkcije, u članu koji opisuje stvaranje CRH

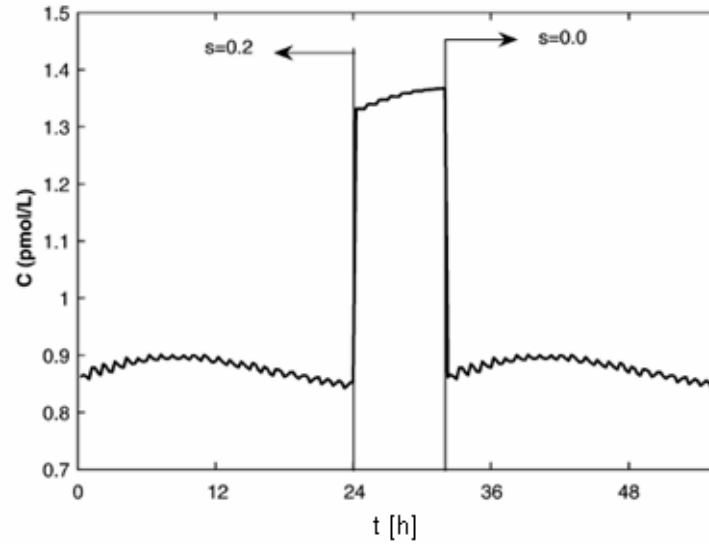
$$P = 1 + 0.2 \sin\left(\frac{2\pi t}{24}\right) + 0.6 \left| \sin\left(\frac{\pi t}{24}\right) \right| \quad (2.22)$$

i na taj način dobijen je i dnevni ritam rada HPA sistema (slika 12).



12. Dnevni ritam rada HPA sistema dobijen numeričkim simulacijama modela (2.21).

Jedan od rezultata izvršenih simulacija u ovom radu, bio je i taj da dejstvo stresora



Slika 13. Simulacija dejstva stresora na rad HPA sistema.

osim što izaziva nagli skok kortizola i odstupanje od njegovog uobičajenog dnevnog ritma, može da dovede i do prestanka unutardnevne oscilatorne sekrecije kortizola, tj. gašenja njegovih unutardnevnih oscilacija (slika 13), što je slično rezultatima simulacija dobijenim na osnovu našeg modela, koji su dati u poglavlju 4 ovog rada.

12. Mc Auley i saradnici (2009. g.) [54] proučavali su odnos stresne reakcije, starenja i funkcionisanja hipokampusu. Formulirali su model dejstva povećanih nivoa kortizola na hipokampus.

$$\begin{aligned}
 \frac{d[CRH]}{dt} &= \frac{k_{crh} * HSCS \left(\frac{[V_{acth}][Cort]}{k_{da} + [Cort]} \right)}{IS} - k_{acth} * PSCS * [CRH] \left(\frac{[V_{acth}][Cort]}{k_{dc} + [Cort]} \right) \\
 \frac{d[ACTH]}{dt} &= k_{acth} * PSCS * [CRH] \left(\frac{[V_{acth}][Cort]}{k_{dc} + [Cort]} \right) - k_{cort} [ACCS][ACTH] \\
 \frac{d[Cort]}{dt} &= k_{cort} * ACCS * [ACTH] - k_{cdeg} [Cort] * TM
 \end{aligned} \tag{2.23}$$

gde su k_{crh} , k_{acth} , k_{cort} koeficijenti brzina stvaranja CRH, ACTH i kortizola, k_{cdeg} je koeficijent brzine degradacije kortizola, V_{acth} opisuje saturaciju inhibicije sekrecije

ćelija hipofize, k_{da} i k_{dc} su konstante disocijacije kortizola u hipotalamusu i hipofizi, $HSCS$, $PSCS$ i $ACCS$ opisuju gubitak ćelija u hipotalamusu, hipofizi i nadbubrežnim žlezdama.

Na osnovu izvršenih numeričkih simulacija zaključeno je da i akutno i hronično povećanje nivoa kortizola dovodi do atrofije hipokampusa. Zaključeno je da hronično povećanje nivoa kortizola ima pogubniji uticaj na ćelije hipokampusa nego niz akutnih skokova u nivou kortizola.

13. Conrad i saradnici (2009. g.) [55] su polazeći od pretpostavke (date u modelu pod rednim brojem 9) da u mozgu kortizolom popunjeni GR receptori smanjuju, a kortizolom popunjeni MR receptori pojačavaju aktivnost HPA sistema predložili sistem od dve diferencijalne jednačine kojima su opisali sekreciju ACTH i kortizola

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dt} &= -b_1 y(t) + \frac{e_1 z(t)}{z(t) + b_2 K_1} - \frac{e_2 z(t)}{z(t) + b_2 K_2} + p(t) \\ \frac{dz}{dt} &= -b_3 z(t) + b_4 y(t)\end{aligned}\tag{2.24}$$

gde je sa $y(t)$ označena koncentracija ACTH a sa $z(t)$ koncentracija kortizola. Koeficijenti b_1, b_2, b_3 , i b_4 opisuju stvaranje i trošenje ACTH i kortizola, e_1 i e_2 predstavljaju maksimalne efikasnosti MR i GR u delu mozak/hipofiza, K_1 i K_2 su afiniteti vezivanja kortizola za MR i GR, a funkcija $p(t)$ opisuje spoljni uticaj, odnosno dotok spoljnog ACTH. Urađena je analiza stabilnosti sistema i dobijeno je asimptotski stabilno stacionarno stanje.

Kao najveći nedostatak ovog modela (kao i prethodno datog modela istih autora, Peters i saradnici, redni broj 9), mozemo istaći polaznu pretpostavku, jer je iz literature poznato da GR imaju različito delovanje, u zavisnosti od lokacije, pa tako u nekim delovima mozga kortizolom popunjeni GR smanjuju, a u drugim pojačavaju aktivnost HPA sistema, što je u suprotnosti sa pretpostavkom prihvaćenom u ovom modelu da GR inhibišu sistem. Ovi autori smatraju da kortizolom popunjeni MR u mozgu aktiviraju sistem, što je u suprotnosti sa eksperimentalnim rezultatima ranije objavljenim u literaturi, na koje se mi pozivamo, gde je dato da kortizolom popunjeni MR u hipokampusu deluju inhibitorno na HPA sistem.

Gore ukratko opisani modeli iako veoma različiti, svaki na svoj način doprinose boljem razumevanju HPA sistema. Primetno je da se nakon objavljivanja u ovom radu analiziranog modela Jelić i saradnici 2005. (opisanog u poglavlju 3), gde je po našim saznanjima, pored ranije opisivanih negativnih, prvi put razmatrana i pozitivna povratna sprega kortizola, javljaju i drugi radovi koji oscilacije HPA sistema pokušavaju da objasne prisustvom različitih pozitivnih povratnih sprega.

Iako veoma značajni sa aspekta razvoja modelovanja HPA sistema, mnogi gore dati modeli imaju i neki nedostatak: ili opisuju samo deo razmatranog sistema, ili su veoma komplikovani i njihova matematička analiza je često nemoguća zbog velikog broja promenljivih i parametara kojima se opisuje dati sistem, osim toga oscilacije prisutne u HPA sistemu kod većine gore prikazanih modela dobijene su direktnim uvođenjem periodičnih matematičkih funkcija u jednačine sistema. Takođe, dosadašnji modeli (čak ni gore dati noviji, koji govore o pozitivnoj sprezi) ne uzimaju u razmatranje pozitivnu povratnu spregu kojom kortizol putem GR u hipokampusu pojačava aktivnost HPA sistema.

Da bismo preciznije opisali razmatrane procese, u daljem modelovanju sekrecije kortizola mogu se uvesti nove vrste koje takođe značajno utiču na rad HPA sistema. Novi linearni ili nelinearni članovi bi se pojavili u diferencijalnim jednačinama stehiometrijskog modela prirodno, proizilazeći iz dinamike stvarnog sistema, dok to nije slučaj kod nestehiometrijskih modela. U tome je očigledna prednost stehiometrijskih u odnosu na nestehiometrijske modele.

Zbog svega gore iznešenog, možemo zaključiti da je potrebno formulisati model HPA sistema koji bi bio dovoljno jednostavan, a opet dovoljno biološki precizan i tačan, da bi se doprinelo boljem razumevanju stvarnih mehanizama funkcionisanja ovog složenog sistema. Model koji može samo da reprodukuje postojeće eksperimentalne podatke je od male koristi, dok se na osnovu dobrog modela može predvideti ponašanje sistema u različitim uslovima, odnosno dobar model je onaj koji dovoljno verno opisuje dinamiku sistema. Dobar model može da ima i praktičnu vrednost, tj. da doprinese boljem razumevanju fiziologije posmatranog sistema. U

složenom biološkom sistemu, kao što je u ovom radu razmatrani hipotalamo-hipofizno-adrenalni sistem, nije sve merljivo, tako da je matematičko modelovanje ovde korisno, posebno ako bi pomoglo da se izdvoje i definišu individualne karakteristike na osnovu kojih bi moglo da se predvidi kako bi pojedinac reagovao u stresnim situacijama (to bi bilo veoma značajno kod pilota, vatrogasaca, vojnika, lekara i sl.) ili na davanje određenih lekova, na primer.

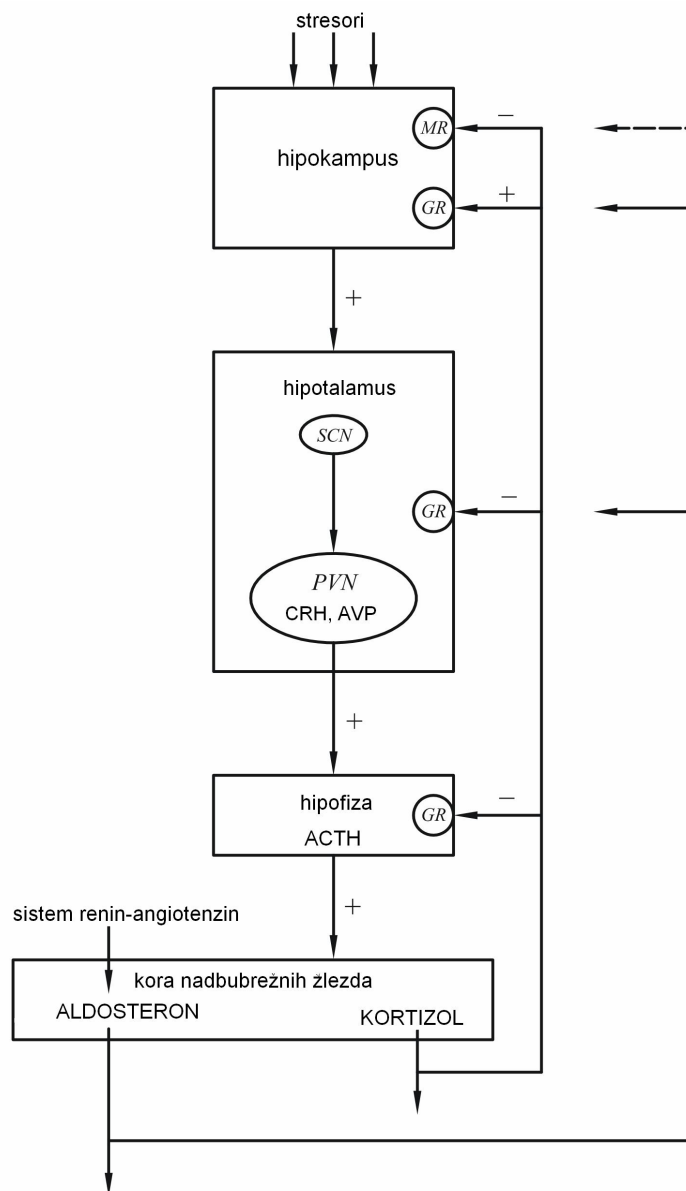
3. PREDLOŽENI MODEL HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNOG SISTEMA

U ovom poglavlju izložen je model HPA sistema formulisan u cilju opisivanja lučenja kortizola [56-58]. Pošto kortizol nije jedini hormon koji može da se veže za MR i aktivira ovu vrstu receptora, u ovaj model uključen je i uticaj aldosterona na popunjenost MR u hipokampusu, a time i na aktivnost čitavog HPA sistema.

3.1. Prikaz polaznog modela HPA sistema

Aldosteron i kortizol imaju zajedničke prekursore, a popunjavaju i zajednicke receptore, MR. Stabilnost aldosteron-MR kompleksa je mnogo veća od stabilnosti kompleksa kortizol-MR, pa se kaže da je aldosteron mnogo efikasniji u aktiviranju MR od kortizola. I pored toga što su koncentracije kortizola u plazmi mnogo veće od koncentracija aldosterona (~ 1000 puta), aldosteron ipak nekako deluje putem MR, mada pitanje “kako?” još uvek nije do kraja razjašnjeno [21] kao što je već spomenuto u poglavlju 1.

Aldosteron, bilo da je lokalno stvoren, ili iz cirkulacije, popunjava neki manji deo, u odnosu na ukupan broj MR u hipokampusu, tako da su ti receptori onda nedostupni kortizolu, tj. kada su MR u hipokampusu u pitanju, aldosteron i kortizol su jedan drugom kompetitivni antagonisti. Popunjavanje MR u hipokampusu aldosteronom, utiče i na popunjavanje GR u hipokampusu, jer je kortizol “prinuđen” da pre počne da ih popunjava. Zbog toga pozitivna povratna sprega kortizola postaje jača, a negativna povratna sprega kortizola, na nivou hipokampusa, slabi (slika 14).



Slika 14. Povratne sprege u hipotalamo-hipofizno-adrenalnom sistemu. Kortikotropni oslobađajući hormon (CRH) i vazopresin (AVP) stimulišu sekreciju adrenokortikotropnog hormona (ACTH) iz hipofize, koju sledi sekrecija kortizola iz kore nadbubrežnih žlezda. Negativna povratna sprega kortizola ostvarena putem glukokortikoidnih receptora (GR) u hipotalamusu i hipofizi, kao i putem mineralokortikoidnih receptora (MR) u hipokampusu, odgovorna je za održavanje bazalne aktivnosti, kao i za okončavanje pojačane aktivnosti ovog sistema izazvane dejstvom stresora, ali takođe je prisutna i pozitivna povratna sprega ostvarena putem GR, kojom kortizol pojačava sintezu CRH u hipokampusu.

U hipotalamusu MR okupirani aldosteronom doprinose jačanju negativne povratne sprege kortizola, koja se realizuje putem GR. U hipofizi je sinteza enzima 11β -HSD 2 pri normalnim uslovima zanemarljiva, ali je u raznim patološkim stanjima deset puta uvećana, tako da pretpostavljamo da je uloga MR popunjenih aldosteronom u hipofizi zanemarljiva pri normalnim uslovima, ali i ovde negativna povratna sprega kortizola, koja se ostvaruje putem GR, postaje jača, indirektno, kao posledica povećanih nivoa kortizola u plazmi, izazvanih povećanom aktivnošću HPA sistema (do koje dolazi zbog jačanja pozitivne i slabljenja negativne povratne sprege kortizola na nivou hipokampusa, gde aldosteron deluje “disinhibišuće” na sistem).

U ovom modelu ne razmatramo ultra-kratke povratne sprege, kojima CRH i ACTH utiču na sopstveno stvaranje, kao ni sekreciju vazopresina, jer su samo neki neuroni u hipotalamusu koji ga stvaraju pod kontrolom SCN, a i zbog toga što ovaj hormon ima mnogo manje dejstvo na sekreciju ACTH i kortizola kada ne deluje istovremeno sa CRH. Ovi uticaji mogu se razmatrati u sledećoj iteraciji ovog, polaznog, modela.

Pod uvedenim pretpostavkama, razmatrani procesi mogu se prikazati sledećim pojednostavljenim modelom:



gde B, A, G i M označavaju koncentracije CRH, ACTH, kortizola i aldosterona u plazmi, respektivno, dok su sa P_1 i P_2 označeni proizvodi eliminacije ACTH i kortizola

(opisane u poslednje dve jednačine gornjeg modela). Sa k_i , gde je $i = 0, m, 1, \dots, 7$ označene su konstante brzina odgovarajućih reakcija. Koeficijenti k_0 i k_m u sebi obuhvataju i koncentracije prekursora CRH i aldosterona.

Prva jednačina opisuje bazalnu sekreciju CRH iz PVN, druga opisuje stvaranje aldosterona pod uticajem renin-angiotenzin sistema, treća opisuje stvaranje ACTH u hipofizi izazvanu dejstvom CRH, a sledeće dve jednačine su pojednostavljen opis stvaranja kortizola i aldosterona u kori nadbubrega, izazvanu dejstvom ACTH. Šesta jednačina opisuje pozitivnu povratnu spregu kortizola, koji putem GR u hipokampusu pojačava ekspresiju gena CRH, a time i sekreciju ACTH i sebe samog. Ova pozitivna povratna sprega, mada opisana pre više od deset godina [12], [16], po našim saznanjima još nije modelovana. Sledeća jednačina opisuje negativnu povratnu spregu, koja se realizuje putem MR u hipokampusu (gde se kortizol i aldosteron "bore" da ih okupiraju), kao i putem GR u hipotalamusu i hipofizi. Ova, negativna, povratna sprega je dobro dokumentovana u medicinskoj literaturi i prethodno je opisivana različitim matematičkim funkcijama, neke od kojih su prikazane u poglavlju 2 ovog rada. Ove dve jednačine (R6 i R7) su "srce" datog modela, jer one određuju dinamiku čitavog sistema.

Pozitivnu povratnu spregu opisali smo jednom reakcijom koja u sebi obuhvata više koraka. Sekreciju kortizola iz kore nadbubrežnih žlezda, izazvanu dejstvom ACTH možemo pojednostavljeno pisati kao u modelu (R1)-(R9)



Putem opšte cirkulacije kortizol stiže do hipokampusu, veže se za kortikosteroidne receptore, aktivirani GR kao homodimeri stimulišu ekspresiju gena CRH. Protein-protein interakcije receptora aktiviranih kortizolom sa raznim koaktivatorima i korepresorima (kao što su AP-1, NF-kB, Stat 5, CREB, i sl.) su veoma bitne, ali nisu još potpuno razjašnjene. Na primer, GR mogu da formiraju kompleks sa Stat 5, koji smanjuje njihovo vezivanje za DNK, a time smanjuje i njihovo dejstvo [10]. Ako pretpostavimo da kortizol interaguje sa nekim koaktivatorom (X), stvarajući kompleks (E_1), možemo pisati



koji zatim interaguje sa nekim drugim faktorom (Y) dajući



onda za pozitivnu povratnu spregu, nakon sabiranja poslednje tri jednačine, dobijamo sledeći izraz



kao što je dato u modelu (R1)-(R9). Negativna povratna sprega kojom kortizol utiče na aktivnost čitavog sistema, a time i na sopstveno stvaranje, opisivana je različitim matematičkim funkcijama, kao što je prikazano u poglavlju 3, a mi smo je opisali slično pozitivnoj, jednom zbirnom reakcijom (R7).

Predloženi model mehanizma HPA sistema je, po našim saznanjima, prvi koji pored negativne povratne sprege (kojom kortizol deluje putem GR u hipotalamusu i hipofizi, kao i MR u hipokampusu), uzima u obzir i pozitivnu povratnu spregu, kojom kortizol (putem GR u hipokampusu) deluje stimulatивно na ekspresiju gena CRH, izazivajući tako i stvaranje ACTH u hipofizi i kortizola u kori nadbubrežnih žlezda. Prihvatajući misao Dr Jonh Fundera da je aldosteron "Pepeljuga" steroida, odnosno, da je nepravedno zapostavljen, razmotreni su i uticaji ovog hormona na aktivnost HPA sistema.

Kinetičke jednačine modela (R1)-(R9) su:

$$\begin{aligned} \frac{dx(t)}{dt} &= k_0 - k_1 x \\ \frac{dy(t)}{dt} &= k_1 x - k_2 y - k_3 y - k_4 y w^2 - k_6 y \\ \frac{dz(t)}{dt} &= k_m + k_3 y - k_5 z w^2 \\ \frac{dw(t)}{dt} &= k_2 y + k_4 y w^2 - k_5 z w^2 - k_7 w \end{aligned} \quad (3.5)$$

gde x, y, z i w označavaju vremenski promenljive koncentracije B, A, M i G.

Model je moguće dalje proširiti. Međusobni uticaji hormona HPA sistema i drugih hormona takođe se mogu razmotriti. Skorašnja istraživanja pokazuju da testosteron, estrogeni i progesteron utiču na mozak više nego što se ranije verovalo [59, 60]. Progesteron se vezuje za MR sa istim afinitetom kao i aldosteron [61] i pokazano je da inhibira 11β -HSD2 [23]. Testosteron interaguje sa HPA sistemom na nivou AVP regulacije [62]. Proinflamatorni citokini stimulišu aktivnost 11β -HSD1, a inhibiraju 11β -HSD2 u kulturama ćelija uzetih iz kosti odraslih ljudi [20]. Serotonin ima važnu ulogu u “programiranju” kortikosteroidnih receptora, tako utičući na sazrevanje HPA sistema i njegovu regulaciju [63, 64].

Kortikosteroidni receptori modulišu i mnoge druge funkcije mozga, kao što je zavisnost od droga ili regulacija telesne težine [12]. Gojaznost je povezana sa povećanim stvaranjem kortizola i njegovim povećanim uklanjanjem iz cirkulacije putem jetre [65]. Aktivnost HPA sistema tokom trudnoće i fetalnog razvoja [66, 67], kao i tokom puberteta i starenja [68, 69], takođe je predmet brojnih studija. Objavljeni su i radovi koji povezuju poremećaj dnevnog ritma rada HPA sistema sa nastankom i razvojem karcinoma i sugerišu uvođenje hronoterapije, odnosno davanja lekova u određeno doba dana, radi njihovog optimalnog dejstva [70]. Sve ove činjenice čine plodno tlo za dalja istraživanja.

3.2. Analiza stabilnosti

3.2.1 Andronov-Hopf bifurkacije

U teoriji nelinearnih sistema, ponašanje, odnosno dinamika, sistema opisuje se sistemom diferencijalnih jednačina [71-75], kao što su jednačine (3.5), koje opisuju kako se stanje sistema menja tokom vremena. U zavisnosti od parametara sistema i početnih uslova, te diferencijalne jednačine mogu imati različita rešenja. Stacionarno stanje sistema može npr. biti tačka, ili kružnica u faznom prostoru sistema, tzv. granični ciklus, kada se u sistemu javljaju periodične oscilacije. Složenija rešenja dinamičkih jednačina su kvaziperiodične i neperiodične orbite, koje opisuju složeno periodično ili haotično ponašanje sistema.

Izraz bifurkacija označava kritičan događaj koji se javlja u dinamičkom sistemu kada se pri promeni nekog parametra sistema iznenada promeni dinamika sistema. Superkritična Andronov-Hopf bifurkacija opisuje stvaranje graničnog ciklusa male amplitude oko stacionarnog stanja, koje je usled promene parametara sistema postalo nestabilno. Osnovni principi teorije nelinearnih sistema i njihova primena u biologiji i hemiji dati su u [71, 72, 76- 79].

Ponašanje sistema u okolini stacionarne tačke aproksimiramo rešenjima tzv. svojstvenog problema Jakobijeve matrice sistema

$$\mathbf{J} \cdot \vec{e}_n = \lambda_n \cdot \vec{e}_n \quad (3.6)$$

Jakobijeva matrica (J) je matrica čiji elementi su parcijalni izvodi prvog reda po svim promenljivim, diferencijalnih jednačina sistema

$$\mathbf{J} = \left[\frac{\partial f_i}{\partial x_j} \right] = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2}{\partial x_2} & & \frac{\partial f_2}{\partial x_n} \\ \vdots & & & \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1} & \frac{\partial f_n}{\partial x_2} & & \frac{\partial f_n}{\partial x_n} \end{bmatrix} \quad (3.7)$$

Rešenja svojstvenog problema ove matrice, tzv. svojstvene vrednosti, označavamo sa λ_n a odgovarajuće svojstvene vektore sa $\vec{e}_n$.

Ako sa x, y, z , i w označimo koncentracije CRH, ACTH, aldosterona i kortizola za razmatrani model HPA sistema Jakobijeva matrica je matrica dimenzije 4×4 , a njeni elementi su izvodi desnih strana jednačina (3.5) po promenljivim x, y, z , i w

$$J = \begin{bmatrix} 0 & -k_1 & 0 & 0 \\ k_1 & -k_2 - k_3 - k_4 w^2 - k_6 & 0 & -2k_4 yw \\ 0 & k_3 & -k_5 w^2 & -2k_5 zw \\ 0 & k_2 + k_4 w^2 & -k_5 w^2 & 2k_4 yw - 2k_5 zw - k_7 \end{bmatrix} \quad (3.8)$$

Svojstveni problem ove matrice možemo napisati u obliku

$$\begin{aligned} \mathbf{J} \cdot \vec{e}_n - \lambda_n \cdot \mathbf{I} \cdot \vec{e}_n &= 0 \\ (\mathbf{J} - \lambda_n \cdot \mathbf{I}) \cdot \vec{e}_n &= 0 \end{aligned} \quad (3.9)$$

gde je $\mathbf{I}$ tzv. jedinična matrica, odnosno matrica koja na glavnoj dijagonali ima sve jedinice, a ostali elementi su joj nule. Rešavanjem svojstvenog problema matrice dobija se njen karakteristični polinom

$$p_J(\lambda_n) = \det(\mathbf{J} - \lambda_n \cdot \mathbf{I}) \quad (3.10)$$

U našem slučaju taj polinom je četvrtog stepena

U opštem slučaju, polinomi višeg stepena nisu jednostavni za analitičko određivanje rešenja.

3.2.2 Analiza stehiometrijskih mreža

Kod modelovanja bioloških sistema uglavnom se razmatraju složene biohemijske reakcije čija analiza, i analitička i numerička, najčešće nije jednostavna, kako zbog složenosti samih diferencijalnih jednačina kojima se sistem opisuje, tako i zbog nedovoljne ispitivosti sistema i mnoštva parametara koji nisu poznati, a često nisu ni merljivi eksperimentalno.

U takvim slučajevima mogu biti od koristi druge metode, kao što su teorija grafova, metoda tzv. "kvenčinga", tj. gašenja oscilacija, ili analiza stehiometrijskih mreža, koje ne zavise direktno od nepoznatih parametara, već dinamička svojstva sistema povezuju sa strukturom same mreže interakcija sistema i mogućim reakcionim putevima.

Osnove analize stehiometrijskih mreža postavio je Clark, 1980. godine [80,81]. U analizi stehiometrijskih mreža koristi se matrična reprezentacija da bi se prikazala dinamika mreže reakcija [82-90]. U matričnoj formi jednačine (3.5) možemo napisati kao

$$\dot{\mathbf{c}} = \mathbf{S} \times \mathbf{v} . \quad (3.13)$$

Ovde je $\dot{\mathbf{c}}$ izvod po vremenu vektora koncentracija $\mathbf{c}$, $\mathbf{S}$ je stehiometrijska matrica, a $\mathbf{v}$ je tzv. vektor brzina reakcija. Vektor $\dot{\mathbf{c}}$ je dimenzije $m \times 1$ i daje promene sa vremenom koncentracija m nezavisnih intermedijarnih vrsta. Nezavisne intermedijarne vrste se u stehiometrijskoj mrežnoj analizi obično nazivaju unutrašnje vrste. Stehiometrijska matrica $\mathbf{S}$ je matrica dimenzije $m \times n$ gde je n broj reakcija posmatrane reakcione mreže. Element S_{ij} stehiometrijske matrice odgovara stehiometrijskom koeficijentu reaktivne vrste i u reakciji (R_j) koja odgovara koloni j . Vektor fluksa $\mathbf{v}$ je vektor dimenzije $1 \times n$ čiji elementi su brzine reakcija. Pomoću matrične reprezentacije date jednačinom (3.13), dinamiku razmatranog biohemijskog sistema možemo analizirati metodama linearne algebre.

Za razmatrani model HPA sistema matrična reprezentacija je sledećeg oblika

$$\begin{bmatrix} \frac{dx}{dt} \\ \frac{dy}{dt} \\ \frac{dz}{dt} \\ \frac{dw}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & -1 & -1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & -1 & 0 & -1 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \\ v_6 \\ v_7 \\ v_8 \\ v_9 \end{bmatrix} \quad (3.14)$$

Da bismo razmotrili vezu nezavisnih intermedijarnih vrsta i dinamike sistema, prvo tražimo kvazi-stacionarna stanja sistema

$$0 = \mathbf{S} \times \mathbf{v}. \quad (3.15)$$

Matematički ovo znači da u vektorskom prostoru brzina reakcija datog modela tražimo potprostor čiji elementi zadovoljavaju jednačinu (3.15). Rešenja ove jednačine nazivaju se ekstremne struje i daju važne informacije o konzistentnosti modela, značaju pojedinih reakcionih puteva, kao i veze pojedinih reakcija, kao što je uzajamno isključivanje ili njihova međuzavisnost [91]. Ekstremne struje date su kolonama matrice $\mathbf{E}$

$$\mathbf{E} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 \\ 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (3.16)$$

čije kolone su označene sa $\mathbf{E}_i$ ($i = 1 - 7$) i predstavljaju reakcione puteve u stacionarnom stanju. Tako, struja $\mathbf{E}_1$ je kombinacija reakcija (R1) + (R2) + (R3) +

(R4) + (R7), a struji E_2 odgovara kombinacija (R1) + (R3) + (R8) itd. U opštem slučaju, sveukupna reakcija u proizvoljnom stacionarnom stanju ne sadrži samo jedan reakcioni put ili ekstremnu struju.

U cilju utvrđivanja uslova pri kojima se u razmatranom sistemu javljaju unutardnevne oscilacije, tj. gore dati sistem diferencijalnih jednačina (3.5) ima oscilatorno rešenje, neophodno je odrediti uslove nestabilnosti.

Stabilnost stacionarnog stanja sistema možemo analizirati ako linearizujemo kinetičke jednačine sistema u blizini stacionarnog stanja.

Stabilnost sistema u određenom stacionarnom stanju određena je znakom realnog dela svojstvenih vrednosti operatora dinamike linearizovanog sistema

$$\mathbf{M} = (\text{diag } \mathbf{h}) \mathbf{S} (\text{diag } \mathbf{E} \mathbf{j}) \mathbf{K}^T \quad (3.17)$$

gde je $\text{diag } \mathbf{h}$ dijagonalna matrica čiji elementi su recipročne vrednosti koncentracija reaktanata u posmatranom stacionarnom stanju (h_i su recipročne vrednosti koncentracija pojedinih vrsta i , gde je $i = 1, \dots, 4$), $\mathbf{S}$ je matrica stehiometrijskih koeficijenata, $\mathbf{K}$ je matrica redova reakcija, a njena transponovana matrica označena je sa $\mathbf{K}^T$. Sa $\text{diag } \mathbf{E} \mathbf{j}$ označena je dijagonalna matrica čiji elementi su koeficijenti brzina reakcija $\mathbf{v}_{ss} = \mathbf{E} \mathbf{j}$, gde je $\mathbf{v}_{ss}$ vektor čiji elementi su koeficijenti brzina reakcija u datom stacionarnom stanju dok je $\mathbf{j}$ vektor brzina struja. Značenje brzina struja j_i , koje su elementi vektora $\mathbf{j}$, biće očigledno na osnovu jednačina (3.23) – (3.31). Ovako formirani operator dinamike linearizovanog sistema predstavlja jakobijan analiziranog dinamičkog sistema izražen preko brzina struja. Stabilnost stacionarnog stanja se određuje rešavanjem svojstvenog problema za taj operator koji ima formu matrice, a već smo pokazali da ovaj postupak vodi do određivanja nula karakterističnog polinoma. Pošto je rešavanje polinoma višeg stepena u opštem slučaju komplikovano, neophodno je primeniti određene aproksimacije. Da bi ispitali stabilnost stacionarnog stanja, obično je dovoljno da iz operatora $\mathbf{M}$ (3.17) izdvojimo matricu brzina struja $\mathbf{V}(\mathbf{j})$, koja je data u sledećem obliku

$$\mathbf{V}(\mathbf{j}) = -\mathbf{S} (\text{diag } \mathbf{E} \mathbf{j}) \mathbf{K}^T \quad (3.18)$$

i odredimo znak svih njenih dijagonalnih minora.

U razmatranom slučaju, ako kao nezavisne unutrašnje vrste redom uzmemo CRH, ACTH, ALDO i CORT, matrice **S** i **K** su

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & -1 & -1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & -1 & 0 & -1 \end{bmatrix} \quad (3.19)$$

$$\mathbf{K} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (3.20)$$

Matrica **E**, čije vrste odgovaraju reakcijama (R1) - (R9), a kolone su označene sa **E_l** (*l* = 1 - 7) i predstavljaju reakcione puteve datog stacionarnog stanja data je gore (jednacina 3.16).

Matrica brzina struja data je sa

$$\mathbf{V(j)} = \begin{bmatrix} j_1 + j_2 + j_3 + j_4 + j_5 + 2j_6 + 2j_7 & -j_4 & j_4 & 0 \\ -j_1 - j_2 - j_3 - j_4 - j_5 - 2j_6 - 2j_7 & j_1 + j_2 + j_3 + j_4 + j_5 + 2j_6 + 2j_7 & 0 & 2j_4 + 2j_5 + 2j_7 \\ 0 & -j_6 - j_7 & j_1 + j_4 + j_6 + j_7 & 2j_1 + 2j_4 + 2j_6 + 2j_7 \\ 0 & -j_1 - j_3 - j_5 - j_6 - j_7 & j_1 + j_6 + j_7 & 2j_1 + j_3 - j_5 + 2j_6 \end{bmatrix} \quad (3.21)$$

Stacionarno stanje je nestabilno ako postoji barem jedan negativan dijagonalni minor matrice **V(j)** [80, 81]. Utvrđeno je da svi negativni minori sadrže izraz $(j_3 + j_5) - 2(j_4 + j_5 + j_7)$, gde je $-2(j_4 + j_5 + j_7)$ jedini negativan član u svima njima. Znaci, taj član je “destabilizujući”, i mora biti po apsolutnoj vrednosti veći od pozitivnih članova da bi stacionarno stanje bilo nestabilno. Izraz, $(j_3 + j_5) - 2(j_4 + j_5 + j_7)$ pomnožen sa $(j_1 + j_4 + j_6 + j_7)$ je tačno minor koji odgovara vrstama G i M, odnosno kortizolu i aldosteronu.

Pošto se veza brzina struja i koeficijentata brzina reakcija može dobiti iz matrice jednačine

$$\mathbf{v}_{ss} = \mathbf{E} \mathbf{j} \quad (3.22)$$

dobija se

$$v_{1,ss} = k_0 = j_1 + j_2 + j_3 + j_4 + j_5 + 2j_6 + 2j_7 \quad (3.23)$$

$$v_{2,ss} = k_m = j_1 + j_4 \quad (3.24)$$

$$v_{3,ss} = k_1 x_{ss} = j_1 + j_2 + j_3 + j_4 + j_5 + 2j_6 + 2j_7 \quad (3.25)$$

$$v_{4,ss} = k_2 y_{ss} = j_1 + j_3 + j_6 \quad (3.26)$$

$$v_{5,ss} = k_3 y_{ss} = j_6 + j_7 \quad (3.27)$$

$$v_{6,ss} = k_4 y_{ss} w_{ss}^2 = j_4 + j_5 + j_7 \quad (3.28)$$

$$v_{7,ss} = k_5 z_{ss} w_{ss}^2 = j_1 + j_4 + j_6 + j_7 \quad (3.29)$$

$$v_{8,ss} = k_6 y_{ss} = j_2 \quad (3.30)$$

$$v_{9,ss} = k_7 w_{ss} = j_3 + j_5 \quad (3.31)$$

Tako, dobijamo da je izraz $j_3 + j_5 - 2(j_4 + j_5 + j_7)$ negativan, odnosno dato stacionarno stanje je nestabilno, ako je

$$v_{9,ss} < 2v_{6,ss} \quad (3.32)$$

Pošto transformacija iz brzina struja u brzine reakcija nije jednoznačna, uslov nestabilnosti može se napisati i u drugom obliku, što može biti značajno ako postoje eksperimentalni podaci o koeficijentima brzina reakcija u datom stacionarnom stanju sistema. Razmatranjem jednačina (3.23) – (3.31) vidimo da važi:

$$v_{1,ss} = v_{3,ss} \quad (3.33)$$

$$v_{7,ss} = v_{2,ss} + v_{5,ss} \quad (3.34)$$

$$v_{1,ss} = v_{4,ss} + v_{5,ss} + v_{6,ss} + v_{8,ss} \quad (3.35)$$

$$v_{3,ss} = v_{5,ss} + v_{7,ss} + v_{8,ss} + v_{9,ss} \quad (3.36)$$

Iz eksperimentalnih ispitivanja HPA sistema dostupno je više kvantitativnih podataka o koncentracijama hormona u razmatranom stacionarnom stanju, nego o odgovarajućim koeficijentima brzina reakcija. Zbog toga, uslove nestabilnosti (3.23) - (3.31) možemo izraziti kao funkcije koncentracija razmatranih vrsta, u datom stacionarnom stanju

$$x_{ss} = k_0 / k_1 \quad (3.37)$$

$$z_{ss} = \frac{k_m + k_3 y_{ss}}{k_5 w_{ss}^2} \quad (3.38)$$

$$y_{ss} = \frac{k_0}{(k_2 + k_3 + k_6) + k_4 w_{ss}^2} = \frac{k_0 - k_m - k_7 w_{ss}}{2k_3 + k_6} \quad (3.39)$$

gde su sa w_{ss} označena rešenja jednačine trećeg stepena

$$-k_4 k_7 w_{ss}^3 + (k_0 - k_m) k_4 w_{ss}^2 - k_7 (k_2 + k_3 + k_6) w_{ss} + [k_0 (k_2 - k_3) - k_m (k_2 + k_3 + k_6)] = 0 \quad (3.40)$$

U razmatranom modelu, koncentracija CRH (odnosno x , jednakost 3.37) u datom stacionarnom stanju definisana je samo odnosom koeficijenata brzina reakcija k_0 i k_1 i zbog toga ima konstantu vrednost. Koncentracija CRH u nasem modelu (kada se ne uvodi funkcija koja bi opisivala dnevni ritam u stvaranju CRH) može biti promenjena samo iznenadnom perturbacijom sistema, ili izmenom spoljašnjih parametara, koji utiču na dnevni ritam HPA sistema. U prvom slučaju, perturbacija se ogleda u pojavi izolovanog pulsa CRH. u drugom slučaju, CRH prati dnevni ritam sekrecije.

Znači, da bismo opisali unutardnevni ritam sekrecije kortizola, parametri izabrani za numeričke simulacije moraju zadovoljavati relaciju (3.32) datu u formi

$$2k_4 k_7 w_{ss}^2 - (k_0 - k_m) 2k_4 w_{ss} + (2k_3 + k_6) k_7 < 0 \quad (3.41)$$

koja se dobija kada se (3.28), (3.31) i (3.39) uvrste u (3.32), i ona napiše kao funkcija koncentracije kortizola. Ova nejednakost daje uslov koji mora biti ispunjen da bi razmatrani sistem diferencijalnih jednačina (3.5) imao oscilatorno rešenje. Pritom mora važiti i jednačina (3.40), koja daje vrednost koncentracije kortizola u stacionarnom stanju.

4. STRESNA REAKCIJA I HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-ADRENALNI SISTEM

U ovom radu, posebna pažnja posvećena je perturbacijama razmatranog sistema, odnosno njegovoj reakciji na dejstvo stresora.

Stresori, fizički ili psihički, akutni ili hronični, dovode do aktivacije HPA sistema, u cilju preživljavanja i prilagođavanja organizma novonastalim uslovima. Stresna reakcija je opsežno proučavana [92-98]. Tokom akutnog dejstva stresora amplituda i sinhronizacija pulseva CRH i AVP značajno raste, izazivajući skok sekrecije ACTH i kortizola [1-3]. Iako se kortizol luči u pulsevima, prateći karakterističan dnevni ritam sekrecije, u literaturi nema mnogo podataka o merenjima kortizola sa čestim uzimanjem uzoraka, naročito kod čoveka, nego se u većini slučajeva meri nekoliko specifičnih vrednosti i smatra se da to dovoljno tačno određuje dnevni ritam, ili skok nivoa kortizola nakon dejstva stresora. U većini radova nekoliko uzoraka krvi (ili pljuvačke, u kojoj se javlja samo slobodan kortizol) je uzeto da bi se izmerio bazalni nivo kortizola, zatim početna reakcija (5-20 minuta nakon dejstva stresora) i faza oporavka (bazalni nivo kortizola obično se ponovo uspostavi nakon 60-90 minuta od početka dejstva stresora) [99].

Objavljeno je mnogo rezultata proučavanja stresnog odgovora kod eksperimentalnih životinja, naročito pacova, koji su doveli do formulisanja nekoliko važnih principa:

1. Stresni odgovor zavisi mnogo od genetskih faktora [100].
2. Rano životno iskustvo može da reprogramira rad HPA sistema, povećavajući ili smanjujući sposobnost jedinke da adekvatno reaguje na dejstvo stresora [101].
3. Hronična aktivacija HPA sistema usled dejstva stresora dovodi do promena u hipotalamičkoj regulaciji CRH i AVP [102,103].
4. Postoji velika "plastičnost" HPA sistema i stresnog odgovora, sa reverzibilnim promenama koje se javljaju tokom trudnoće i laktacije [104].
5. Postoji značajna razlika u reagovanju na dejstvo stresora čak i kod životinja istog genetskog porekla i pri istim uslovima okolne sredine [105].

Jasno je da se ne mogu svi rezultati istraživanja dobijeni za pacove direktno preneti i na čoveka, već ih treba na odgovarajući način uopštiti i proveriti, što zbog metodoloških razloga nije uvek ni lako ni izvodljivo. Osim razlike u doba dana kada su aktivni (pacovi su noćne životinje), pacovi imaju jedan puls kortikosterona tokom sat vremena, dok ljudi imaju dva do tri pulsa kortizola tokom sat vremena, što opet stvara razliku pri merenju. Kod ljudi treba uzeti u razmatranje i uticaj iščekivanja stresne situacije, koje je samo po sebi takođe stresor [98].

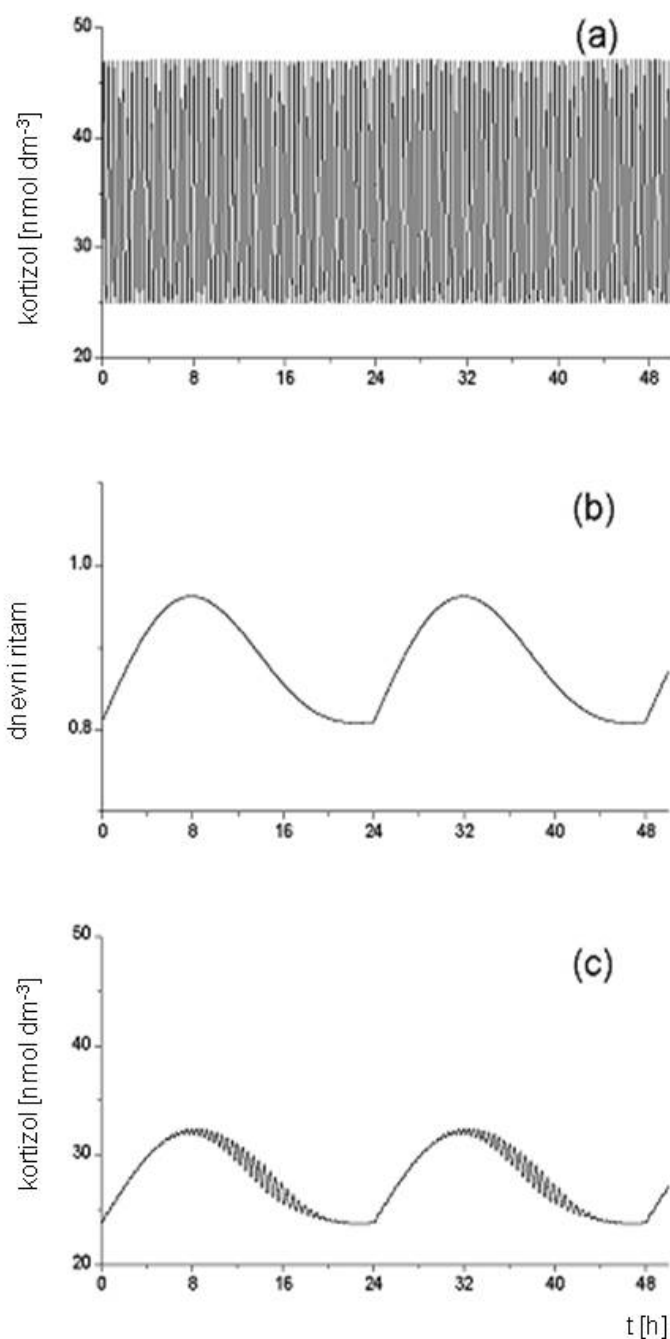
Zbog svega rečenog, modelovanje i numeričke simulacije mogu pomoći u razjašnjavanju mehanizama funkcionisanja HPA sistema, naročito kod ljudi.

4. 1. Numeričke simulacije

Validnost formulisanog modela, tj njegova sposobnost da verno prikaže dinamiku nekog sistema, kao i mogućnost da dovoljno tačno predvidi evoluciju sistema, na osnovu datih parametara sistema, može se proveriti numeričkim simulacijama. Numeričke simulacije rada HPA sistema na osnovu modela (R1)-(R9) urađene su prvo pri bazalnim uslovima (4.1.1), a zatim i pri simuliranom akutnom (4.1.2) i hroničnom (4.1.3) dejstvu stresora.

4.1.1. Aktivnost HPA sistema pri bazalnim uslovima

Rezultat numeričkih simulacija sekrecije kortizola, zasnovanih na diferencijalnim jednačinama (3.5), pri čemu dnevne oscilacije nivoa CRH nisu uzete u obzir, prikazan je na slici 15(a).



Slika 15. Numerička simulacija dnevnog ritma sekrecije kortizola pri bazalnim uslovima. (a) Unutardnevni ritam sekrecije kortizola bez simulacije dnevnog ritma rada HPA sistema $x_0 = 1.0 \times 10^{-8}$ M, $y_0 = 9.66 \times 10^{-8}$ M, $z_0 = 9.76 \times 10^{-9}$ M, $w_0 = 2.76 \times 10^{-8}$ M. (b) Funkcija P odabrana da opiše dnevni ritam: $P = 0,8095 + 0,061248 \times \sin(2\pi t/1440) + 0,11484 \times \text{abs}(\sin(\pi t/1440))$. (c) Dnevni i unutardnevni ritam sekrecije kortizola. Početne vrednosti koncentracija su: $x_0 = 8.09 \times$

10^{-9} M, $y_0 = 9.15 \times 10^{-8}$ M, $z_0 = 2.03 \times 10^{-8}$ M, $w_0 = 2.38 \times 10^{-8}$ M. Koficijenti brzina reakcija su: $k_0 = 1.83 \times 10^{-8} \text{ min}^{-1}$, $k_m = 6.09 \times 10^{-11} \text{ min}^{-1}$, $k_1 = 1.83 \text{ min}^{-1}$, $k_2 = 3.60 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, $k_3 = 2.88 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$, $k_4 = 1.26 \times 10^{14} \text{ min}^{-1} \text{ M}^{-2}$, $k_5 = 7.05 \times 10^{12} \text{ min}^{-1} \text{ M}^{-2}$, $k_6 = 5.35 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, $k_7 = 4.10 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$, $k_P = k_0 \times P$

Vrednosti parametara korišćene u numeričkim simulacijama procenjene su na osnovu podataka iz literature, gde je to bilo moguće, a ostale su uzete u skladu sa uslovom nestabilnosti (3.41). Vrednosti poluživota za ACTH i kortizol (za ACTH iznosi 10-20 minuta, a za kortizol 80-120 minuta [1]) upotrebljene su za procenu konstanti brzina k_6 i k_7 . Međutim, treba imati u vidu da su razmatrani realni procesi složeni i da ove dve reakcije, (R8) i (R9), nisu jedine koje zavise od vremena poluživota ACTH i kortizola. Pošto nismo imali vrednosti ostalih konstanti, one su procenjene iz merenih dnevnih vrednosti koncentracija posmatranih hormona [1]. Za odabrani skup parametara sistema, dobijeno je periodično rešenje, koje opisuje unutar-dnevni ritam sekrecije kortizola sa dve do tri oscilacije u toku sat vremena, u skladu sa poznatim eksperimentalnim rezultatima [1-3]. Da bismo opisali dnevni ritam rada HPA sistema, koji diktira unutrašnji biološki časovnik, SCN, uveli smo asimetričnu periodičnu funkciju (P), sa periodom od 24 h, u sledećem obliku

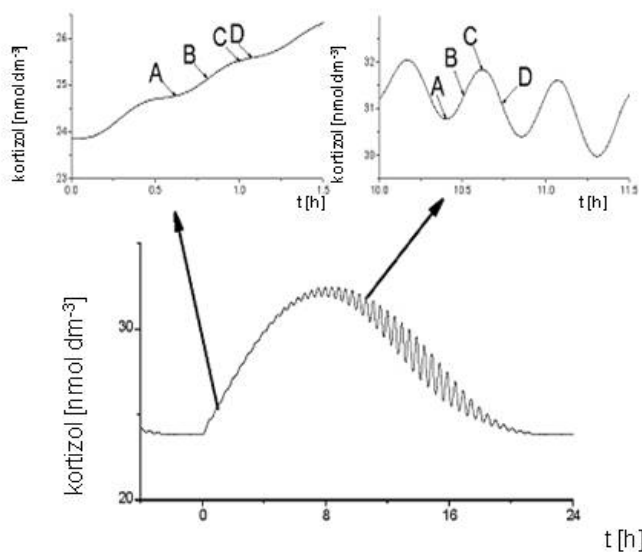
$$P=0,8095+0,061248 \times \sin(2\pi t/1440)+0,11484 \times \text{abs}(\sin(\pi t/1440)),$$

(prikazanu na slici 15(b)). Ova funkcija odabrana je tako da reprodukuje asimetriju koja postoji tokom 24 časa, između faze aktivnosti i morovanja, tj. spavanja (dana i noći, kod čoveka), period mirovanja je otprilike 1/3 od 24 časa. Funkcija P utiče direktno samo na stvaranje CRH, jer smo je uveli tako što smo umesto koeficijenta k_0 u prvoj jednačini sistema (3.5) stavili $k_P = k_0 \times P$. Funkcija izabrana da opiše dnevni ritam HPA sistema mogla je biti i nekog drugog oblika, npr. prosta sinusoidalna, ali u tom slučaju nema asimetrije između perioda mirovanja i aktivnosti tokom dana. Numerička simulacija dnevnog profila kortizola, za izabranu funkciju P, data je na slici 15(c).

4.1.2. Aktivnost HPA sistema pri akutnom dejstvu stresora

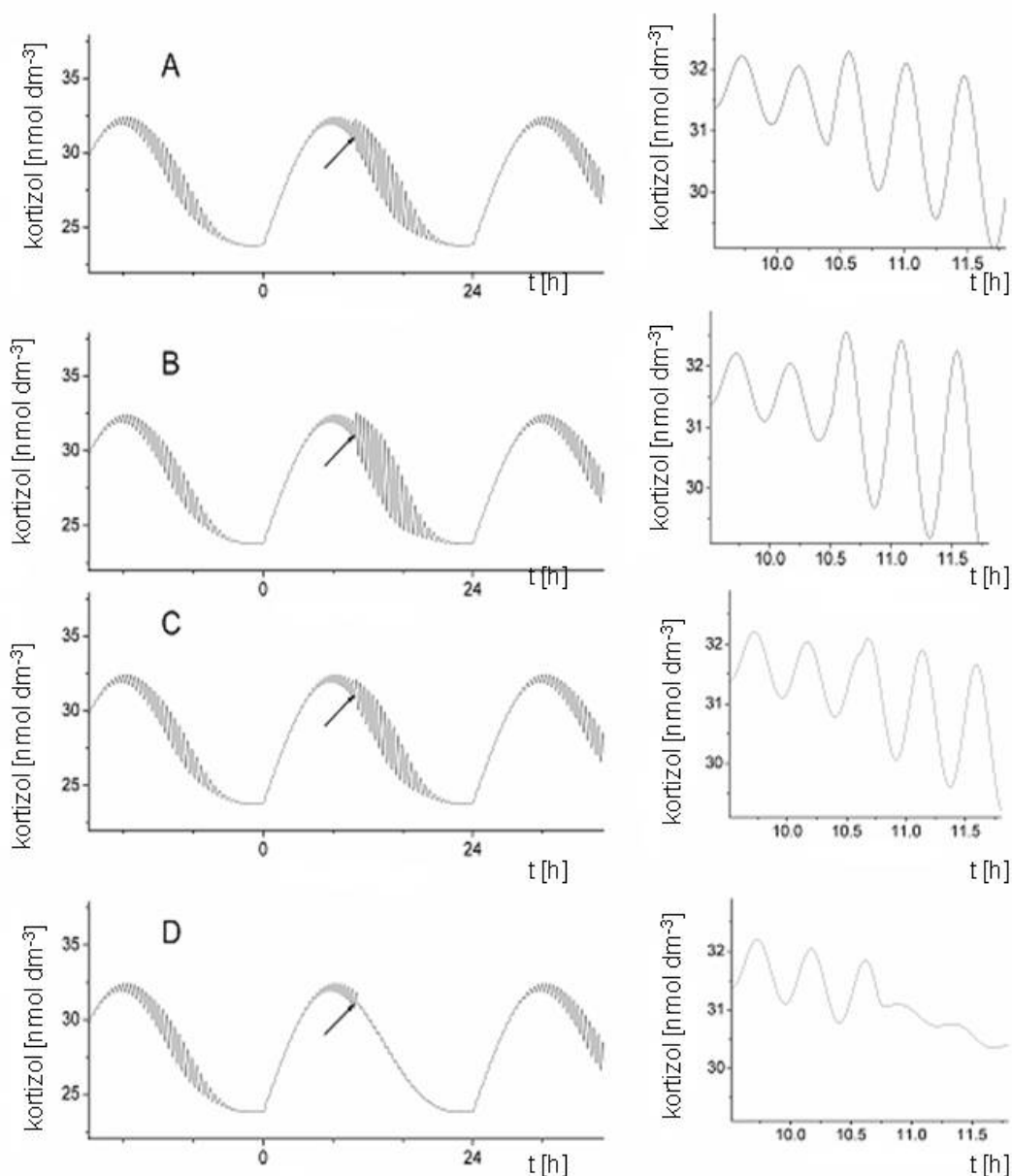
Normalan odgovor HPA sistema na dejstvo svakodnevnih stresora, tj. na male perturbacije, je značajan za opstanak organizma. Usled dejstva stresora, dolazi do aktivacije ovog sistema u cilju regulacije brojnih telesnih funkcija, koja se ogleda u naglom skoku koncentracije CRH, praćenim skokom koncentracija ACTH i kortizola, a zatim se sistem vraća u polazno stanje po prestanku dejstva stresora.

Predloženi stehiometrijski model, na osnovu kojega se, za odabrani skup parametara sistema, dobija dnevni profil sekrecije kortizola prikazan na slici 15(c), zatim je perturbovan sa ciljem da se proverí njegova validnost, tj simulira ponašanje sistema pri dejstvu stresora. Izvršene numeričke simulacije pokazuju da odgovor sistema, pri dejstvu akutnog stresa, zavisi od doba dana kada je stresor delovao, ali i od faze izabranog unutardnevnog pulsa kortizola. Zbog toga je neophodno razmatrati odvojeno odgovore sistema na perturbacije tokom dana i tokom noći, kao i pri različitim fazama izabranog pulsa kortizola (slika 16).



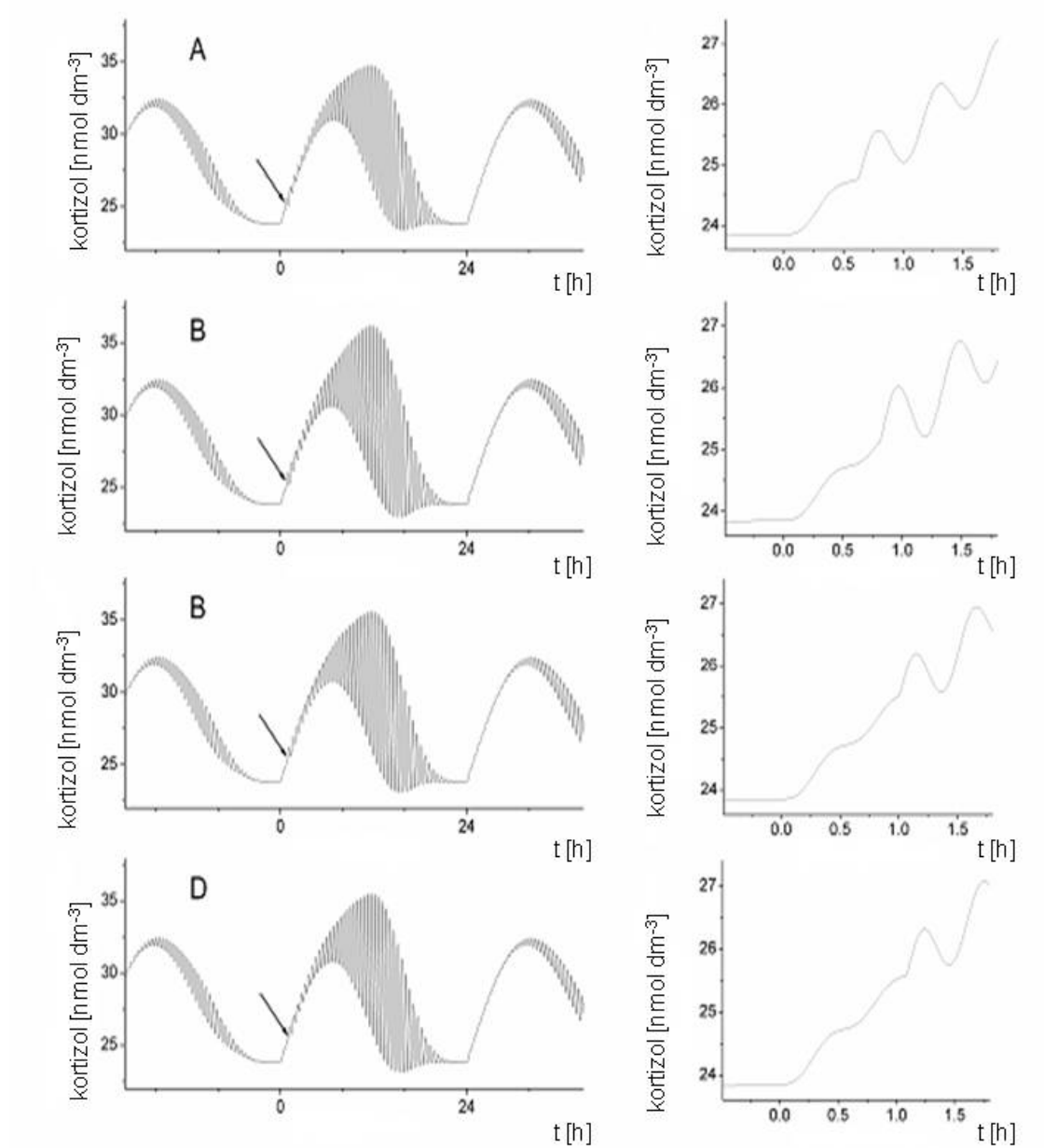
Slika 16. Simulirani dnevni ritam sekrecije kortizola pri bazalnim uslovima. Unutardnevne oscilacije odabrane za vršenje perturbacija prikazane su na uvećanim delovima. Slovom A, B, C i D označene su četiti različite faze odabranih pulseva, u kojima se vrše perturbacije.

Perturbacije sistema tokom dana i tokom noći, u četiri različite faze jednog pulsa kortizola (označene slovima A, B, C i D), date su na slikama 17 i 18, respektivno. Perturbacije su rađene u maksimumu i minimum unutardnevnog pulsa kortizola, kao i u tačkama koje se nalaze na polovini rastojanja između te dve tačke (što približno odgovara tačkama infleksije unutardnevnog pulsa kortizola).



Slika 17. Odgovor HPA sistema na perturbacije tokom dana. Na slikama A, B, C i D date su perturbacije u odgovarajućim fazama odabranog unutardnevnog pulsa kortizola (vidi sliku 16). Uvećani segmenti sa odabranim pulsom dati su na slici

desno. Intenzitet primenjene perturbacije iznosio je $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$. Druge konstante su iste kao kod slike 15.



Slika 18. Odgovor HPA sistema na perturbacije tokom noći. Na slikama A, B, C i D date su perturbacije u odgovarajućim fazama odabranog pulsa kortizola (vidi sliku 16). Uvećani segmenti su dati na slici desno. Intenzitet primenjene perturbacije iznosio je $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$. Druge konstante su iste kao kod slike 15.

Napomenućemo da maksimum i minimum pulsa kortizola tokom noći nisu stvarni maksimum i minimum, već samo odgovarajuće tačke na krivoj koja oblikom više podseća na stepenice.

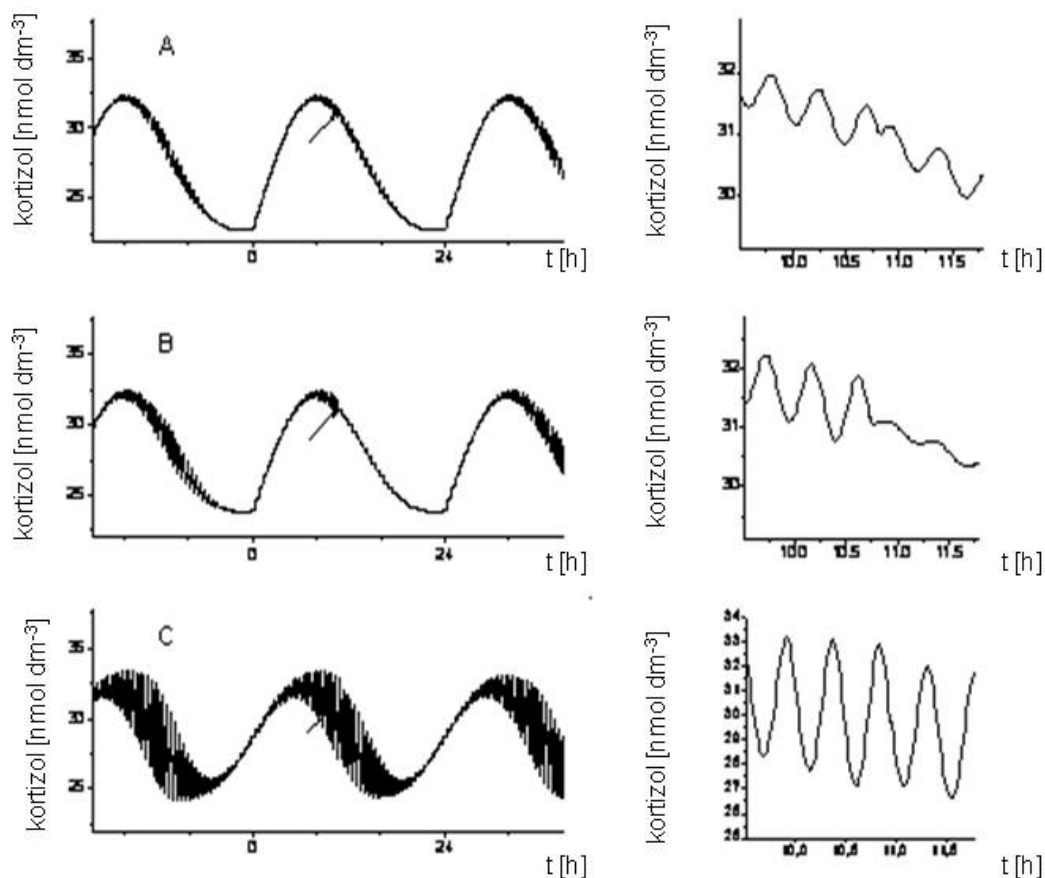
Numeričke simulacije stresom indukovane aktivnosti HPA sistema pokazuju da taj sistem daje jači odgovor na dejstvo stresora kada su amplitude unutardnevnih pulseva kortizola manje, tokom perioda smanjene aktivnosti HPA sistema, odnosno noću kod čoveka i životinja koje su aktivne danju, a danju kod noćnih životinja (npr. pacova). Ovaj rezultat je u skladu sa podacima iz literature [106, 107]. Uočene razlike mogu se možda objasniti razmatranjem popunjenosti kortikosteroidnih receptora u hipokampusu. U maksimumu dnevnog ritma sekrecije kortizola MR i GR u hipokampusu su skoro u potpunosti popunjeni, tako da HPA sistem ne može da reaguje „punim kapacitetom“ jer nema dovoljno slobodnih GR u hipokampusu koji bi nakon popunjavanja kortizolom dodatno aktivirali sistem putem pozitivne povratne sprege. Za razliku od dnevnog maksimuma, tokom noći veliki broj GR u hipokampusu je nepopunjen, tako da je pozitivna povratna sprega koja se vrši putem ovih receptora reaktivnija i HPA sistem je osetljiviji na dejstvo stresora. Povratak HPA sistema na bazalni nivo, nakon akutnog dejstva stresora, odvija se brže kada su amplitude unutardnevnih pulseva kortizola veće, tj. tokom dana. Znači, mogli bismo reći da je pulsatilna sekrecija kortizola evolutivno razvijen mehanizam, u cilju bolje zaštite organizma od dejstva različitih stresora.

Osim toga pokazano je i da amplitude pulseva kortizola, nakon perturbacije, zavise od faze posmatranog pulsa, u kojoj je došlo do perturbacije (u svim slučajevima intenzitet primenjene perturbacije bio je $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$, a u zavisnosti od faze pulsa kortizola dobijeni su različiti odgovori sistema). U maksimumima i minimumima posmatranog unutardnevnog pulsa kortizola sistem ne reaguje na perturbacije toliko snažno kao za tačke između ove dve, gde odgovori mogu biti i suprotni. Kada je perturbacija primenjena u tački infleksije koja se nalazi na uzlaznom delu posmatranog pulsa kortizola, između minimuma i maksimuma (slika 16, tačka B) uvek je dolazilo do rasta amplituda, međutim, odgovor sistema nakon perturbacije u tački infleksije koja se nalazi između maksimuma i minimuma

posmatranog pulsa kortizola (slika 16, tačka D) jako zavisi od intenziteta primenjene perturbacije, kao i od oblika posmatranog pulsa kortizola (koji se menja zavisno od dnevnog ritma). Ako se perturbacije vrše različitim intenzitetom, odnosno dodavanjem različite količine CRH, u svim slučajevima u istoj tački (tj u tački infleksije koja se nalazi izmedju maksimuma i minimuma posmatranog pulsa kortizola), dobijaju se različiti odgovori sistema: od rasta amplituda posle perturbacije do njihovog opadanja, a u nekim slučajevima i do pestanka oscilatornog ponašanja. Smanjivanje amplituda, nakon perturbacija, od ranije je poznat fenomen u hemijskim i biohemijskim oscilatornim reakcijama [108-110]. Odstupanje od dnevnog ritma sekrecije i gašenje oscilacija kortizola nakon dejstva stresora, kao rezultat numeričkih simulacija, dato je takođe u objavljenom radu [53] razmatranom u poglavlju 2, ali tu nije ispitivan uticaj faze unutar dnevnog pulsa kortizola na odgovor sistema.

4.1.3 Uticaj oblika funkcije koja opisuje dnevni ritam HPA sistema na njegov rad

Među ljudima postoje značajne razlike u obliku dnevnog ritma rada HPA sistema (slika 5, poglavlje 1), dok se smatra da je taj ritam prilično stabilan za jednu osobu tokom njenog života. Zbog toga je u ovom radu razmatrana i osetljivost modela na izbor funkcije kojom opisujemo dnevni ritam sekrecije kortizola. Na slici 19, prikazani su rezultati simulacija za dve slične funkcije, koje opisuju dnevni ritam kortizola, označene sa (A) i (B), kao i za jednu sinusoidalnu funkciju (C). Perturbacije su primenjene u istom trenutku, u tački infleksije na silaznom delu pulsa kortizola, tokom dana.



Slika 20. Perturbacije HPA sistema za tri različite funkcije izabrane da opišu dnevni ritam sekrecije sistema. Uvećani segmenti, gde je perturbacija koncentracije CRH iznosila $1 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ dati su desno. Ostale konstante su: $G(0) = 2,76 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$; $K_0 = 0,0831$; $K_m = 2,7693 \times 10^{-4}$; $\alpha = 1,5776 \times 10^{-4}$; $\beta = 0,0197$; $\gamma = 0,0293$; $\delta = 0,2245$; $\phi = 0,0560$; a tri izabrane funkcije su oblika:

$$(A) P = 0,7904 + 0,0689 \times \sin(2\pi t/1440) + 0,1292 \times \text{abs}[\sin(\pi t/1440)]$$

$$(B) P = 0,8095 + 0,0612 \times \sin(2\pi t/1440) + 0,1148 \times \text{abs}[\sin(\pi t/1440)]$$

$$(C) P = 0,8980 + 0,0640 \times \sin(2\pi t/1440)$$

Izvršene numeričke simulacije, za različite funkcije kojima je opisan dnevni ritam sekrecije kortizola, pokazuju da oblik tih funkcija takođe utiče na odgovor sistema na dejstvo stresora. Ovo je u skladu sa poznatom činjenicom da ista stresna situacija može izazvati različite stresne reakcije kod različitih osoba. Ono što za nekoga nije veliki stres, za nekog drugog može biti veoma stresno. Iako je značajna pažnja naučne javnosti posvećena proučavanju genetskih razlika i faktora iz okoline

koji mogu da doprinesu ovim razlikama, studije na ljudima su retke i uslovljene metodološkim problemima.

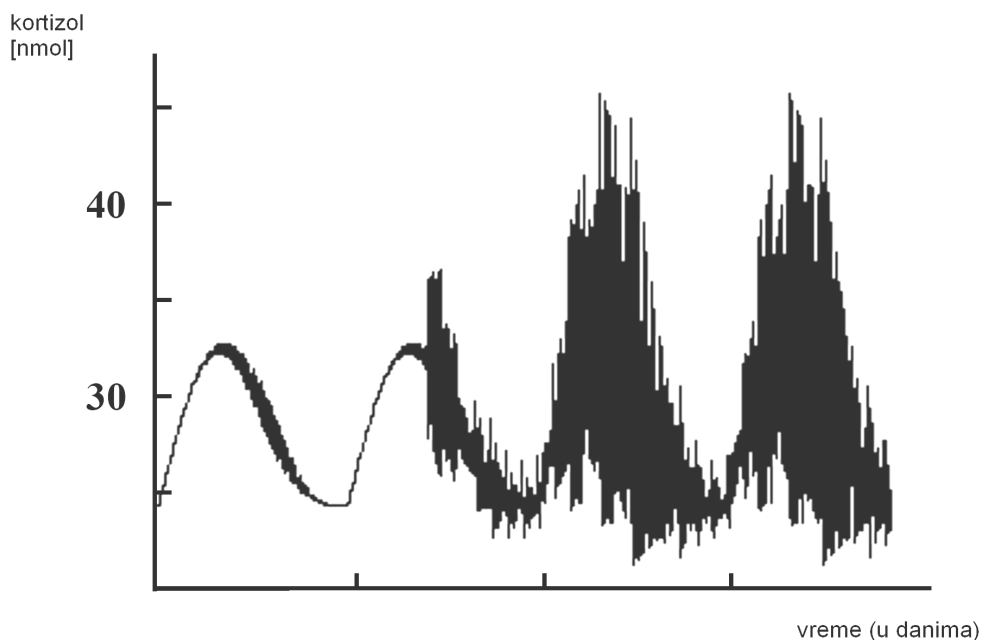
Pored razlika u obliku dnevnog ritma i njihovog uticaja na stresni odgovor kod različitih ljudi, u eksperimentalnim ispitivanjima rada HPA sistema trebalo bi razmotriti i uticaj unutar dnevnih oscilacija kortizola, jer kako je pokazano na osnovu našeg modela i izvršenih simulacija, osim dnevnog ritma, odnosno doba dana kada je do perturbacije došlo, i faza unutar dnevnog pulsa kortizola utiče na odgovor sistema na perturbaciju. Možemo reći i da isti stresor kod jednog čoveka može izazvati različite reakcije, zavisno od doba dana i faze unutar dnevnog pulsa kortizola, u kojoj je došlo do dejstva stresora.

4.1.4 Hronično dejstvo stresora i rad HPA sistema

Da bismo simulirali hronično dejstvo stresora na rad HPA sistema, u numeričkim simulacijama vršene su periodične perturbacije sistema, iznenadnim pulsним povećavanjem nivoa CRH u pravilnim vremenskim razmacima. Ovo je rezultiralo izraženom promenom ritma sekrecije kortizola, pa se umesto ranije dobijenih unutar dnevnih oscilacija kortizola, male amplitude, dobija iregularna sekrecija kortizola (slika 21).

Perturbacije malog intenziteta ($p_{CRH} \leq 1,0 \times 10^{-9}$ M) primenjene sa niskom frekvencijom ($T \geq 20$ min) dovele su do povećanja amplituda pulseva kortizola, ali je srednji nivo kortizola ostao nepromenjen i minimum dnevnog ritma uspešno je "brisao" efekte dejstva stresora, tj tokom noći sistem se vraćao u uobičajeni režim rada.

Za razliku od malih perturbacija, jače ($p_{CRH} > 1,0 \times 10^{-9}$ M) i češće perturbacije ($T < 20$ min) pulsevima CRH, dovele su do značajnog povećanja amplituda oscilacija kortizola, kao i do povećanja srednje vrednosti kortizola. Ovo povećanje nije se moglo poništiti tokom perioda mirovanja, tako da se izražene oscilacije kortizola dobijaju i tokom noći (slika 21).



Slika 21. Numerička simulacija hroničnog dejstva stresora, gde je perturbacija sistema vršena svaka 2 h, pulsevima CRH ($p_{\text{CRH}} = 5 \times 10^{-9}$ M).

Razmatrani model može pomoći u delimičnom objašnjavanju naizgled paradoksalog ponašanja HPA sistema opisanog u nekim radovima (npr [111]) gde se kaže da je odgovor HPA sistema na akutno dejstvo stresora smanjen u stanju hroničnog stresa. Na osnovu izvršenih numeričkih simulacija možemo videti da amplitude unutardnevnih pulseva kortizola rastu tokom hroničnog dejstva stresora, a na osnovu prethodno izvršenih simulacija rada HPA sistema tokom dana i tokom noći vidi se da se sistem brže vraća u polazno stanje kada su amplitude unutardnevnih pulseva kortizola veće (tj. tokom dana), pa možemo reći da iz toga proizilazi primećena slabija senzitivnost na dejstvo akutnog stresora u situaciji hroničnog stresa.

Sa stanovišta relativne popunjenosti MR i GR možemo reći da su pri hroničnom dejstvu stresora povećani nivoi kortizola tako da su pored MR koji su gotovo uvek popunjeni kortizolom (i pri bazalnim uslovima), sada i GR u većoj meri popunjeni kortizolom, tako da pozitivna povratna sprega putem GR u hipokampusu

nije u mogućnosti da dodatno aktivira sistem usled novonastalog akutnog dejstva stresora.

Stalne promene relativne popunjenosti ove dve vrste receptora omogućavaju prenos važnih regulatornih informacija u HPA sistemu, na osnovu praćenja promena amplituda i frekvencije unutardnevnih pulseva kortizola.

Tako je u životinjskom modelu artritisa [112], kod pacova primećena povećana sekrecija kortikosterona, sa skraćenim intervalom između dva unutardnevna pulsa i trajnijom popunjenošću MR i GR. Sa druge strane, u depresiji, kod ljudi, i frekvencija i amplituda pulseva kortizola su normalne, kao i unutardnevni i dnevni ritam, ali je primećen povišen nivo "bazalne", ne-pulsatilne sekrecije kortizola, što sugerise povećanu senzitivnost nadbubrežnih žlezda na efekte ACTH [68, 69, 113] koja još nije do kraja razjašnjena.

Ovaj porast u 'pragu' aktivacije HPA sistema i povećana osetljivost nadbubrežnih žlezda na dejstvo ACTH, na osnovu naše slike HPA sistema, možda su posledica uticaja aldosterona na popunjenost MR i GR kortizolom, tj aktivacije sistema usled jačanja pozitivne sprege kortizolom popunjenih GR u hipokampusu, zbog povećane popunjenosti hipokamplanih MR aldosteronom.

ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji prikazan model HPA sistema koji, za razliku od ranije u literaturi datih modela tog sistema, osim negativnih povratnih sprega kortizola, razmatra i njegovu pozitivnu povratnu spregu, koja se ostvaruje na nivou hipokampusa, putem GR, kao i uticaj aldosterona na rad ovog složenog neuroendokrinog sistema.

Na osnovu datog matematičkog modela, primenom metode stehiometrijske mrežne analize, utvrđen je neophodan uslov koji moraju ispunjavati parametri sistema da bi oscilatorna evolucija sistema bila moguća. Zatim su, u skladu sa ovim uslovom, urađene numeričke simulacije rada HPA sistema, pri bazalnim uslovima, kao i pri akutnom i hroničnom dejstvu stresora.

Izvršene numeričke simulacije jasno pokazuju da odgovor sistema zavisi od doba dana, kada je stresor primenjen, kao i od faze izabranog unutardnevnog pulsa kortizola, u kojoj je do perturbacije došlo. Povratak HPA sistema na bazalni nivo, nakon akutnog dejstva stresora, odvija se brže kada su amplitude unutardnevnih pulseva kortizola veće, tj. tokom dana. Osim toga, pokazano je i da oblik funkcije koja opisuje dnevni ritam rada HPA sistema, takođe utiče na odgovor sistema.

Dobijeni rezultati su u skladu sa poznatom činjenicom da isti stresor dovodi do različitih reakcija kod različitih osoba, a i kod jednog istog čoveka dejstvo nekog stresora daje različite reakcije, zavisno od doba dana i faze pulsa kortizola u kojoj je došlo do dejstva stresora.

Pri hroničnom dejstvu stresora dolazi do smanjene osetljivosti HPA sistema na akutno dejstvo stresora. Možemo reći da su pri hroničnom dejstvu stresora povećani nivoi kortizola tako da su pored MR, koji su gotovo uvek popunjeni kortizolom (i pri bazalnim uslovima), sada i GR u većoj meri popunjeni kortizolom, tako da pozitivna

povratna sprega putem GR u hipokampusu nije u mogućnosti da dodatno adekvatno aktivira sistem usled novonastalog akutnog dejstva stresora.

Pomoću numeričkih simulacija baziranih na pretpostavljenom modelu, pokazano je da je pulsatilna sekrecija kortizola evolutivno razvijen mehanizam, u cilju adaptacije organizma na ritmičke promene u okruženju i njegove bolje zaštite od dejstva različitih stresora.

Pulsevi kortizola kod ljudi su veći danju, dok su noću gotovo zanemarljivi, što opet oslikava njihov značaj i ulogu u savladavanju izazova tokom perioda aktivnosti, jer u skladu sa našim rezultatima, što je veća amplituda pulseva kortizola, niža je osetljivost HPA sistema na dejstvo stresora.

Umerene i kratkotrajane stresne reakcije, koje rezultiraju prolaznim skokom nivoa kortizola, su neophodne i značajne za normalan rast i razvoj kao i svakodnevno funkcionisanje organizma. Dejstvo ekstremnih i/ili hroničnih stresora može da dovede do promena u funkcionisanju HPA sistema.

Za kraj, možemo reći da bi rasvetljavanje mehanizama kojima MR receptori prepoznaju i vezuju aldosteron i kortizol u različitim tkivima i organima doprinelo boljem razumevanju funkcionisanja HPA sistema. Proučavanje unutar dnevnih oscilacija, kao i uloge relativne popunjenosti MR i GR kortizolom i aldosteronom u regulaciji rada HPA sistema, pomoglo bi njegovom boljem razumevanju, a zatim i razvoju metoda kontrolisanog uticanja na njegov rad, pri normalnim uslovima, tokom dejstva stresora, kao i u različitim fizičkim ili psihičkim patološkim stanjima.

Literatura:

- [1] P. Felig, Endocrinology and Metabolism, McGraw-Hill, USA, 1995.
- [2] C. Tsigos, G.P. Chrousos, 2002. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress, J. Psychosom. Res. 53, 865-871.
- [3] S. Makino, K. Hashimoto, P. W. Gold, 2002. Multiple feedback mechanisms activating corticotrophin-releasing hormone system in the brain during stress, Pharmacology, Biochemistry and Behavior 73, 147-158.
- [4] M. Arai, I. Q. Assil, A. B. Abou-Samra, 2001. Characterization of three corticotropin-releasing factor receptors in catfish: a novel third receptor is predominantly expressed in pituitary and urophysis. Endocrinology 142, 446–454.
- [5] T.-Y. Wang, X.-Q. Chen, J.-Z. Du, N.-Y. Xu, C.-B. Wei, W. Vale, 2004. Corticotropin-releasing factor receptor type 1 and 2 mRNA expression in the rat anterior pituitary is modulated by intermittent hypoxia, cold and restraint. Neuroscience 128, 111-119.
- [6] A. Balsalobre, S. A. Brown, L. Marcacci, F. Tronche, C. Kellendonk, H. M. Reichardt, G. Scuty, U. Schibler, 2000. Reseting of Circadian Time in Peripheral Tissues by Glucocorticoid Signaling. Science 289 (5488), 2344-2349.
- [7] D. J. Dijk, S. W. Lockley, 2002. Invited Review: Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. J. Appl. Physiol. 92, 852-862.

- [8] N. Cermakian, D. B. Boivin, 2003. A molecular perspective of human circadian rhythm disorders. *Brain. Res. Review.* 42, 204-220.
- [9] S. Makino, K. Hashimoto, P. W. Gold, 2002. Multiple feedback mechanisms activating corticotrophin-releasing hormone system in the brain during stress. *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour* 73, 147-158.
- [10] B. S. McEwen, 2001. Invited Review: Estrogens effect on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 91, 2785-2801.
- [11] R. H. DeRijk, M. Schaaf, E. R. de Kloet, 2002. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J. Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 81, 103-122.
- [12] C. Kellendonk, P. Gass, O. Kretz, G. Schutz, F. Tronche, 2002. Corticosteroid receptors in the brain: Gene targeting studies. *Brain. Res. Bull.* 57, 73-83.
- [13] M. E. Baker, 2004. Co-evolution of steroidogenic and steroid-inactivating enzymes and adrenal and sex steroid receptors. *Mol. Cell. Endo.* 215, 55-62.
- [14] F. M. Rogerson, F. E. Brennan, P. J. Fuller, 2004. Mineralocorticoid receptor binding, structure and function. *Mol. Cell. Endo.* 217, 203-212.
- [15] E. R. De Kloet, E. Vreugdenhil, M. S. Oitzl, 1998. Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease. *Endocrine Rev.* 19 (3), 269-301.
- [16] J. Schulkin, P. W. Gold, B. S. McEwen, 1998. Induction of corticotrophin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and alostatic load. *Psychoneuroendocrinology* 23 (3), 219-243.
- [17] F. Holsboer, 2000. The Corticosteroid Receptor Hypotheses of Depression. *Neuropsychopharmacology* 23, 477-501.

- [18] N. Farman, N., M. E. Rafestin-Oblin, 2001. Multiple aspects of mineralocorticoid selectivity. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 280, F181-F192.
- [19] C. H. Hellel-Levy, B. Couette, J. Fagart, A. Souque, C. Gomez-Sanchez, M. E. Rafestin-Oblin, 1999. Specific hydroxylations determine selective corticosteroid recognition by human glucocorticoid and mineralocorticoid receptors. *FEBS Letters* 464, 9-13.
- [20] E. A. Walker, P. M. Stewart, 2003. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase: unexpected connections. *TRENDS in Endocr. and Metab.* 14 (7), 334-339.
- [21] J. W. Funder, 2000. Aldosterone and mineralocorticoid receptors: Orphan questions. *Kidney Int.* 57, 1358-1363.
- [22] T. Brabham, A. Phelka, C. Zimmer, A. Nash, J. F. Lopez, D. M. Vazquez, 2000. Effects of prenatal dexamethasone on spatial learning and response to stress is influenced by maternal factors, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279, R1899-R1909.
- [23] J. W. Kasckow, D. Baker, T. D. Geraciotti, 2001. Corticotropin-releasing hormone in depression and post-traumatic stress disorder, *Peptides* 22, 845-851.
- [24] M. B. Muller, F. Holsboer, M. E. Keck, 2002. Genetic modification of corticosteroid receptor signalling: Novel insights into pathophysiology and treatment strategies of human affective disorders, *Neuropeptides* 36, 117-131.
- [25] U. Ehlert, J. Gaab, M. Heinrichs, 2001. Psychoneuroendocrinological contributions to the etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, *Biological Psychology* 57, 141-152.

- [26] М. А. Ханина, Методы математической биологии: Методы синтеза динамических моделей биологических систем, Головное издательство издательского объединения "Вища школа", Киев, 1981.
- [27] L. Bing-Zheng, D. Gou-Min, 1991. An Improved Mathematical Model of Hormone Secretion in the Hypothalamo-Pituitary-Gonadal Axis in Man, J. Theor. Biol. 150, 51-58.
- [28] L. K. Sekula, J. F. Lucke, E. K. Heist, R. K. Czambel, R. T. Rubin, 1997. Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression XV: mathematical modeling of nocturnal melatonin secretion in major depressives and normal controls, Psychiatry Res. 69, 143-153.
- [29] D. M. Keenan, J. D. Veldhuis, 1998. A biomathematical model of time-delayed feedback in the human male hypothalamo-pituitary-Leydig cell axis, Am. J. Physiol. 275, E157-E176.
- [30] C. Londergan, E. Peacock-Lopez, 1998. Dynamic model of hormonal systems coupled by negative feedback, Biophysical Chem. 73, 85-107.
- [31] E. N. Brown, P. M. Meehan, A. P. Dempster, 2001. A stochastic differential equation model of diurnal cortisol patterns, Am J Physiol Endocrinol Metab 280, E450-E461.
- [32] Y. Lenbury, S. Ruktamatakul, S. Amornsamarnkul, 2001. Modeling insulin kinetics: responses to a single oral glucose administration or ambulatory-fed conditions, BioSystems 59, 15-25.
- [33] T. F. Massoud, G. J. Hademenos, W. L. Young, E. Gao, J. Pile-Spellman, F. Vinuela, 1998. Principles and philosophy of modeling in biomedical research, FASEB J. 12, 27-54.

- [34] V. Hatzimanikatis, K. H. Lee, 1999. Dynamical Analysis of Gene Networks Requires Both mRNA and Protein Expression Information, *Metabolic Engineering* 1, 275-281 (E1)-(E7).
- [35] D. Gonze, J. C. Leloup, A. Goldbeter, 2000. Theoretical models for circadian rhythm in *Neurospora* and *Drosophila*, *Life Sci* 323, 57-67.
- [36] J. J. Tyson, B. Novak, 2001. Regulation of the Eucariotyc Cell Cycle: Molecular Antagonism, Hysteresis and Irreversible Transitions, *J. Theor. Biol.* 210, 249-263.
- [37] H. R. Ueda, M. Hagiwara, H. Kitano, 2001. Robust Oscillations within the Interlocked Feedback Model of *Drosophila* Circadian Rhythm, *J. Theor. Biol.* 210, 401-406.
- [38] G. Kurosawa, A. Mochizuki, Y. Iwasa, 2002. Comparative Study of Circadian Clock Models, in Search of Processes Promoting Oscillation, *J. Theor. Biol.* 216, 193-208.
- [39] D. Gonze, J. Halloy, J. C. Leloup, A. Goldbeter, 2003. Stochastic models for circadian rhythms: effect of molecular noise on periodic and chaotic behavior, *C. R. Biologies* 326, 189-203.
- [40] J. N. Weis, Z. Qu, A. Garfinkel, 2003. Understanding biological complexity: lessons from the past, *FASEB J.* 17, 1-6.
- [41] D. P. Dempsher, D. S. Gann, R. D. Phair, 1984. A mechanistic Model of ACTH-stimulated cortisol secretion, *Am. J. Physiol.* 246, R587-R596.
- [42] Y. Lenbury, P. Pacheenburawana, 1991. Modelling fluctuation phenomena in the plasma cortisol secretion system in normal man, *BioSystems* 26, 117-125.

- [43] J. Gonzalez-Heydrich, R. J. Steingard, I. Kohane, 1994. A computer simulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis, Eighteenth Annual Proceedings of the Symposium for Computer Applications in Medical Care (SCAMC), p.1010.
- [44] J. Gonzalez-Heydrich, R. Steingard, F. Putnam, W. Beardslee, I. Kohane, 1999. Using 'off shelf', computer programs to mine additional insights from published data: diurnal variation in potency of ACTH stimulation of cortisol secretion revealed, *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 58, 227-238.
- [45] A. Chakraborty, W. Krzyzanski, W. J. Jusko, 1999. Mathematical modeling of circadian cortisol concentrations using indirect response models: comparison of several methods, *J. of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 27(1), 23-43.
- [46] A. Dokoumetzidis, A. Iliadis, P. Macheras, 2002. Nonlinear dynamics in Clinical Pharmacology: the paradigm of cortisol secretion and suppression, *J. Clin. Pharmacol.* 54, 21-29.
- [47] V. Kyrilov, L. A. Severyanova, A. Vieirakyrilov, 2005. Modeling Robust Oscillatory Behavior of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, *IEEE Transactions on Biomed Eng.* 52 (12), 1977-1983.
- [48] D. Savić, S. Jelić, 2005. A mathematical model of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system and its stability analysis, *Chaos, Solitons and Fractals* 26, 427-436.
- [49] D. Savić, S. Jelić, 2005. A theoretical study of hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis dynamics, *Annals of the New York Academy of Sci.* 1048, 430-433.
- [50] D. Savić, S. Jelić, N. Burić, 2006. Stability of a general delay differential model of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system, *Int. J. of Bifurcation and Chaos* 16 (10), 3079-3085.

- [51] A. Peters, M. Conrad, C. Hubold, U. Schweiger, B. Fischer, H. L. Fehm, 2007. The principle of homeostasis in the hypothalamus-pituitary-adrenal system: new insight from positive feedback *Am. J. Physiol. Regulatory. Integrative. Comp. Physiol.* 293, 83-98.
- [52] S. Gupta, E. Aslakson, B. M. Gurbaxani, S. D. Vernon, 2007. Inclusion of the glucocorticoid receptor in a hypothalamic pituitary adrenal axis model reveals bistability, *Theoretical Biology and Medical Modelling* 4(8), doi:10.1186/1742-4682-4-8. <http://www.tbiomed.com/content/4/1/8>
- [53] N. Bairagi, S. Chatterjee, J. Chattopadhyay, 2008. Variability in the secretion of corticotropin-releasing hormone, adrenocorticotrophic hormone and cortisol and understandability of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis dynamics-a mathematical study based on clinical evidence, *Mathematical Medicine and Biology* 25, 37-63.
- [54] M. T. Mc Auley, R. A. Kenny, T. B. L. J. Kirkwood, D. J. W. Wilkinson, J. L. Jones, V. M. Miller 2009. A Mathematical Model of aging-related and cortisol induced hippocampal dysfunction, *BMC Neuroscience* 10(26) doi:10.1186/1471-2202-10-26, <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/10/26>
- [55] M. Conrad, C. Hubold, B. Fischer, A. Peters, 2009. Modeling the hypothalamus-pituitary-adrenal system: homeostasis by interacting positive and negative feedback, *J. Biol. Phys.* 35, 149-162.
- [56] S. Jelić, Ž. Čupić, Lj. Kolar-Anić, 2005. Mathematical modelling of the hypothalamic-pituitary-adrenal system activity, *Math. Biosciences* 197, 173-187.
- [57] S. Jelić, Ž. Čupić, Lj. Kolar-Anić, 2008. Modelling of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal System Activity Based on the Stoichiometric Analysis, In "New Research on Neurosecretory Systems", Eds. E. Romano, S. De Luca, Nova Science Publishers, Inc., New York, pp. 225-245 ISBN: 978-1-60456-594-2.

- [58] S. Jelić, Ž. Čupić, Lj. Kolar-Anić, V. Vukojević, 2009. Predictive modeling of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) function. Dynamic system theory approach by stoichiometric network analysis and quenching of small amplitude oscillations, *Int. J. of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation* 10(11-12), 1451-1472.

- [59] B. Weber, S. Lewicka, M. Deuschle, M. Colla, I. Heuser, 2000. Testosterone, androstenedione and dihydrotestosterone concentrations are elevated in female patients with major depression, *Psychoneuroendocrinology* 25, 765-771.

- [60] M. A. Morgan, J. Schulkin, D. W. Pfaff, 2004. Estrogens and non-reproductive behaviours related to activity and fear, *Neuroscience and Biobehavioral Rev.* 28, 55-63.

- [61] M. D. Galigniana, G. P. Pilipuk, K. C. Kanelakis, G. Burton, C. P. Lantos, 2004. Molecular mechanism of activation and nuclear translocation of the mineralocorticoid receptor upon binding of pregnanesteroids, *Mol. Cell. Endo.* 217, 167-179.

- [62] V. Viau, M. J. Meaney, 1996. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area, *J. Neurosci.* 16, 1866-1876.

- [63] T. Dinan, 1996. Minireview: Serotonin and the regulation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis function. *Life Sci.* 58, 1683-1694.

- [64] P. Erdeljan, J. F. MacDonald, S. G. Matthews, 2001. Glucocorticoids and serotonin alter glucocorticoid receptor (GR) but not mineralocorticoid receptor (MR) mRNA levels in fetal mouse hippocampal neurons in vitro, *Brain. Res.* 896, 130-136

- [65] D. J. Wake, B. R. Walker, 2004. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase typ 1 in obesity and the metabolic syndrome, *Mol. Cell. Endo.* 215, 45-54.
- [66] M. Keller-Wood, C. E. Wood, 2001. Pregnancy alters cortisol feedback inhibition of stimulated ACTH: studies on adrenalectomised ewes, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 280, R1790-R1798.
- [67] C. Obel, M. Hedegaard, T. B. Henriksen, N. J. Secher, J. Olson, S. Levine, 2005. Stress and salivary cortisol during pregnancy, *Psychoneuroendocrinology* 30, 647-656.
- [68] I. Heuser, M. Deuschle, A. Weber, A. Kniest, C. Zeigler, B. Weber, M. Colla, 2000. The role of mineralocorticoid receptors in the circadian activity of the human hypothalamus-pituitary-adrenal system: effect of age. *Neurobiology of aging* 21, 585-589.
- [69] I. Heuser, 2002. Depression, endocrinologically a syndrome of premature aging? *Maturitas* 41 (1), S19-S23.
- [70] S. Rana, S. Mahmood, 2010. Circadian rhythm and its role in malignancy, *Journal of Circadian Rhythms* 2010, 8:3 doi:10.1186/1740-3391-8-3.
- [71] P. Gray, S. K. Scott, 1990. Chemical oscillations and Instabilities-Non-linear Chemical Kinetics, Clarendon Press, Oxford.
- [72] Дж. Марии, 1983. Нелинейные дифференциальные уравнения в биологии лекции о моделях, Мир, Москва.
- [73] М.В.Федорок, 1979. Обыкновенные дифференциальные уравнения, Мир, Москва.
- [74] S. W. Smye, R. H. Clayton 2002. Mathematical modeling for the new millennium: medicine by numbers, *medical Engineering and Physics* 24, 565-574.

- [75] И. И. Ляшко, А. К. Боярчук, Я. Г. Гай, А. Ф. Калайда, 1987. Математический анализ: Интегрирование дифференциальных уравнений, Головное издательство издательского объединения "Вища школа", Киев.
- [76] Scott A, editor, 2005. Encyclopedia of Nonlinear Science, New York: Routledge Taylor & Francis Group.
- [77] T. Wilhelm, R. Heinrich, 1995. Smallest chemical reaction system with Hopf bifurcation, J. Math. Chem. 17, 1-14.
- [78] B. D. Hassard, N. D. Kazarinoff, Y. H. Wan YH, 1981. Theory and Applications of Hopf Bifurcation, New York: Cambridge University Press.
- [79] A. Goldbetter, 1996. Biochemical Oscillations and Cellular Rhythms. Cambridge: Cambridge University Press.
- [80] B. Clarke, 1980. Stability of complex reaction networks. In: Prigogine I. Rice S, editors. Advances in chemical physics. New York: Wiley, pp. 1–216.
- [81] B. Clarke B, 1988. Stoichiometric network analysis. Cell. Biophys. 12, 237-253.
- [82] R. Urbanczik, C. Wagner, 2005. An improved algorithm for stoichiometric network analysis: theory and applications, Bioinformatics 21 (7), 1203–1210.
- [83] S. Franzle, U. B. Markert, 2000. The Biological System of the Elements (BSE). Part II: a theoretical model for establishing the essentiality of chemical elements. The application of stoichiometric network analysis to the biological system of the elements, The Science of the Total Environment 249, 223-241.
- [84] S. Schuster S, D. A. Fell, T. Dandekar, 2000. A general definition of metabolic pathways useful for systematic organization and analysis of complex metabolic networks, Nature Biotechnology 18, 326-332.

- [85] S. J. Wiback, R. Mahadevan, B. O. Palsson, 2003. Reconstructing metabolic flux vectors from extreme pathways: defining the alpha-spectrum, *J. Theor. Biol.* 224, 313–324.
- [86] B. O. Palsson, N. D. Price, J. A. Papin, 2003. Development of network-based pathway definitions: the need to analyze real metabolic networks, *Trends Biotechnol.* 21, 195-198.
- [87] C. H. Schilling, S. Schuster, B. O. Palsson, R. Heinrich, 1999. Metabolic Pathway Analysis: Basic Concepts and Scientific Applications in the Post-genomic Era, *Biotechnol. Prog.* 15, 296-303.
- [88] J. A. Papin, N. D. Price, S. J. Wiback, D. A. Fell, B. O. Palsson, 2003. Metabolic pathways in the post-genome era, *Trends Biochem. Sci.* 28, 250-258.
- [89] D. A. Beard, H. Qian, J. B. Bassingthwaite, 2004. Stoichiometric Foundation of Large-Scale Biochemical System Analysis, In: Ciobanu G, Rozenberg G, editors. *Modeling in Molecular Biology*, New York: Springer Natural Computing Series. pp.1-19.
- [90] S. Klamt, J. Stelling, 2003. Two approaches for metabolic pathway analysis? *Trends Biotechnol.* 21, 64-69.
- [91] J. Gagneur, S. Klamt, 2004. Computation of elementary modes: a unifying framework and the new binary approach, *BMC Bioinformatics* 5,175.
- [92] S. J. Lupien, M. Lepage, 2001. Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it, *Behavioural Brain Res.* 127, 137-158.
- [93] E. R. de Kloet, 2000. Stress in the brain, *European Journal of Pharmacology* 405, 187-198.

- [94] G. P. Chrousos, P. W. Gold, 1992. The concepts of stress and stress system disorders, *JAMA* 267, 1244-1252.
- [95] J. P. Herman, W. E. Cullinan, 1997. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 20, 78-84.
- [96] F. Holsboer, 2001. Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy. *J. of Affective Disorders* 62, 77-91.
- [97] I. Heuser, C-H. Lammers, 2003. Stress and the brain. *Neurobiology of aging* 24, S69-S76.
- [98] J. Gaab, N. Rohleder, U. M. Nater, U. Ehlert, 2005. Psychological determinants of the cortisol stress response: the role of anticipatory cognitive appraisal, *Psychoneuroendocrinology* 30, 599-610.
- [99] B. M. Kudielka, C. Kirschbaum, 2005. Sex differences in HPA axis response to stress: a review. *Biological Psychology* 69, 113-132.
- [100] R.J. Windle, S.A. Wood, S.L. Lightman, C.D. Ingram, 1998. The pulsatile characteristics of hypothalamo–pituitary–adrenal activity in female Lewis and Fischer 344 rats and its relationship to differential stress responses, *Endocrinology* 139, 4044–4052.
- [101] N. Shanks, R.J. Windle, P.A. Perks, M.S. Harbuz, D.S. Jessop, C.D. Ingram, S.L. Lightman, 2000. Early-life exposure to endotoxin alters hypothalamic–pituitary–adrenal function and predisposition to inflammation, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 5645–5650.
- [102] H.S. Chowdrey, P.J. Larsen, M.S. Harbuz, D.S. Jessop, G. Aguilera, D.J. Eckland, S.L. Lightman, 1995. Evidence for arginine vasopressin as the primary activator of the HPA axis during adjuvant-induced arthritis, *Brit. J. Pharmacol.* 116, 2417–2424.

- [103] X.M. Ma, S.L. Lightman, G. Aguilera, 1999. Vasopressin and corticotropin-releasing hormone gene responses to novel stress in rats adapted to repeated restraint, *Endocrinology* 140, 3623–3632.
- [104] S.L. Lightman, R.J. Windle, A.P. Da Costa, N. Shanks, C.D. Ingram, 1998. Lactation: a physiological model of stress hyporesponsiveness of the neuroendocrine system, in: A. Levy, E. Grauer, D. Ben Nathan, E.R. DeKloet (Eds.), *New Frontiers in Stress Research*, Harwood Academic Publishers, JMBH, The Netherlands, pp. 59–71.
- [105] R.J. Windle, S.A. Wood, N. Shanks, S.L. Lightman, C.D. Ingram, 1998. Ultradian rhythm of basal corticosterone release in the female rat: dynamic interaction with the response to acute stress, *Endocrinology* 139, 443–450.
- [106] L. Plat, R. Leprout, M. L'Hermite-Baleriaux, F. Fery, J. Mockel, K.S. Polonsky, E. Van Cauter, 1999. Metabolic effects of short-term elevations of plasma cortisol are more pronounced in the evening than in the morning. *J Clin Endocrinol Metab* 84, 3082-92.
- [107] Maheu, FS; Collicutt, P; Kornik, R; Moszkowski, R; Lupien, S, 2005. The perfect time to be stressed: A differential modulation of human memory by stress applied in the morning or in the afternoon. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 8, 1281-88.
- [108] Nielsen, K; Sørensen, PG; Hynne, F; Busse, H-G, 1998. Sustained oscillations in glycolysis: an experimental and theoretical study of chaotic and complex periodic behaviour and of quenching of simple oscillations. *Biophys Chem*, 72, 49-62.
- [109] Vukojević, V; Anić, S; Kolar-Anić, Lj. 2002. Investigation of the Dynamic Behaviour of the Bray-Liebhafsky Reaction in the CSTR. Properties of the

System Examined by Pulsed Perturbations with I-. *Phys Chem Chem Phys*, 4, 1276-83.

- [110] V. Vukojević, P. G. Sørensen, F. Hynne, 1993. Quenching Analysis of the Briggs-Rauscher Reaction. *J Phys Chem* 97, 4091-4100.
- [111] S. L. Lightman, R. J. Windle, X. M. Ma, M. S. Harbuz, N. M. Shanks et al. 2002. Hypothalamic-pituitary-adrenal function. *Arch. Physiol. Biochem.* 110, 90-93.
- [112] R.J. Windle, S.A. Wood, Y.M. Kershaw, S.L. Lightman, C.D. Ingram, M.S. Harbuz, 2001. Increased corticosterone pulse frequency during adjuvant-induced arthritis and its relationship to alterations in stress responsiveness, *J. Neuroendocrinol.* 13, 905–911.
- [113] E. A. Young, J. Abelson, S. L. Lightman, 2004. Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health, *Frontiers in Neuroendocrinology* 25, 69–76.
- [114] P.J. Fuller, Y. Yao, J. Yang, M. J. Young, 2012. Mechanisms of ligand specificity of the mineralocorticoid receptor, *J of Endocrinology* 213, 15–24.

Biografija autora

Smiljana Jelić rođena je 4. septembra 1969. god. u Somboru, gde je završila osnovnu i srednju školu matematičkog smera. Diplomom Fizičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, smer teorijska fizika, stekla je 1998. godine. Poslediplomske studije završila je 2005. god na Fakultetu za fizičku hemiju Univerziteta u Beogradu, smer Dinamika nelinearnih sistema, odbranivši magistarski rad pod naslovom "Dinamička analiza hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine". Od januara 1999. zaposlena je u Institutu za nuklearne nauke Vinča, u Laboratoriji za teorijsku fiziku i fiziku kondenzovane materije (020/2).

Objavljeni naučni radovi i saopštenja

Kandidat se bavio proučavanjem dinamike nelinearnih sistema, posebno formulisanjem i analizom stabilnosti modela hipotalamo-hipofizno-adrenalnog sistema, a rezultati ovih istraživanja su saopšteni na nekoliko međunarodnih konferencija, u vidu pet radova štampanih u celini i jednog u izvodima, kao i četiri rada objavljena u vodećim časopisima međunarodnog značaja.

Monografska studija/poglavlje u knjizi M12 ili rad u tematskom zborniku medjunarodnog značaja M14:

1. Jelić S, Čupić Ž, Kolar-Anić Lj. Modelling of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal System Activity Based on the Stoichiometric Analysis, In "New Research on Neurosecretory Systems", Eds. E. Romano, S. De Luca, Nova Science Publishers, Inc., New York 2008, pp. 225-245 ISBN: 978-1-60456-594-2.

Radovi objavljeni u vodećem časopisu međunarodnog značaja M21:

1. Jelić S, Čupić Č, Kolar-Anić Lj, Vukojević V. Predictive modeling of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) function. Dynamic systems theory approach by stoichiometric network analysis and quenching small amplitude oscillations. International Journal of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation 10(10), (2009) 1505-1526
2. Jelić S, Čupić Ž, Kolar-Anić Lj. Mathematical modelling of the hypothalamic-pituitary-adrenal system activity. Mathematical Biosciences 197 (2005) 173-187,
3. Savić D, Jelić S. A mathematical model of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system and its stability analysis. Chaos, Solitons and Fractals 26 (2005) 427-436,
4. Savić D, Jelić S. A theoretical study of hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis dynamics. Annals of the New York Academy of Sciences Vol 1048 (2005) 430-433,
5. Savić D, Jelić S, Burić N. Stability of a general delay differential model of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. International Journal of Bifurcation and Chaos Vol 16, No.10 (2006) 3079-3085).

B.3. Radovi saopšteni na konferenciji međunarodnog značaja štampani u celini M33:

1. Marković V, Jelić S, Vukojević V, Kolar-Anić Lj (2010) Modelling the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis response to external perturbations with cortisol. Physical Chemistry 2010. Society of Physical Chemists of Serbia, Belgrade: 212-214.
2. Jelic S, Cupic Z, Kolar-Anic Lj (2006): Influence of the form of the periodic function that describes the circadian rhythm of the HPA system activity. 8th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry PHYSICAL CHEMISTRY 2006, Belgrade, Proceedings, Vol. 1, 264-266,
3. Jelic S (2006): Singularity theory approach applied to four-dimensional model of the hypothalamic-pituitary-adrenal system activity, 8th International Conference on

Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry PHYSICAL CHEMISTRY
2006, Belgrade, Proceedings, Vol. 1, 267-269.

4. Jelić S, Čupić Ž, Kolar-Anić Lj. (2006): Modeling stress induced hypothalamic-pituitary-adrenal system activity, Papers from the INSC CONFERENCE, 10-12 March, University of Crete, Medical School, Heraklion, Crete, Greece,

5. Jelić S, Čupić Ž, Kolar-Anić Lj. (2004): Modelling of the hypothalamic-pituitary-adrenal system activity. Selforganization in nonequilibrium systems, Papers from the International Conference in nonlinear Sciences, Belgrade, September 24-25,

6. Savić Danka and Gajić Smiljana (1998.): How strong is the stress spring? Stability analysis of the mathematical model of the stress response mechanism. Iugoslav. Pharmacol. Acta, Vol. 34, 231-236.

Rad saopšten na konferenciji međunarodnog značaja, štampan u izvodu M34:

1. A theoretical study of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis dynamics, Savić, D. and Jelić, S., 22nd International Symposium on Biophysics, Sv. Stefan & Belgrade, 9-13th October, 2004).

OZNAKE

HPA sistem	hipotalamo-hipofizno-adrenalni sistem
ACTH	adrenokortikotropni hormon (hormon hipofize)
CRH	kortikotropni oslobađajući hormon (hormon koji se luči iz hipotalamusa)
CORT	kortizol (hormon koji luče nadbubrežne žlezde)
PVN	paraventrikularni nukleus (deo hipotalamusa, koji luči CRH)
SCN	suprahijazmatički nukleus, deo hipotalamusa koji diktira dnevni ritam sekrecije CRH, tzv. "unutrašnji biološki sat"
GR	glukokortikoidni receptori
MR	mineralokortikoidni receptori
11 β -HSD	11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza
AVP	vazopresin (hormon koji se luči iz hipotalamusa)