

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Bojana M. Popović

**Uticaj utreniranosti i polimorfizama u genima
za glukokortikoidni, mineralokortikoidni i
adrenokortikotropni receptor na fiziološku
adaptaciju hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne
osovine na hronično ponavljani fizički stres**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Bojana M. Popović

**Effect of training and polymorphisms in genes
for glucocorticoid, mineralocorticoid, and
adrenocorticotrophic receptor on physiological
adaptation of hypothalamo-pituitary-adrenal
axis to chronic repeated physical stress**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor

Prof dr Svetozar Damjanović

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma
Klinički Centar Srbije, Beograd
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije za ocenu završene doktorske disertacije:

1. Prof. dr Milan Petakov
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Miloš Žarković
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metaboliza
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Gordana Matić
Institut za biomedicinska istraživanja "Siniša Stanković"
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane: _____ 2018. godine

Posvećeno mojima

Saši, Nadi, Miciju i Marku

U trenutku kada je ova doktorska disertacija završena, sa neizmernim uvažavanjem želim da naglasim da je veliki broj ljudi na najrazličitije načine pomogao da ona nastane

Zahvaljujem se svom mentoru, Prof. dr Svetozaru Damjanoviću, jer su njegova inteligencija i znanje bili neophodni za razrešavanje dilema, a naročito onih koje nisu ni opisane u literaturi.

Doc. dr Dejana Popović je kamen temeljac ovog projekta i njegov neizostavni deo od početka do kraja. Neizmerno hvala za neposustajanje u teškim okolnostima. Veliku zahvalnost osećam i prema Ass. dr Marku Banoviću, Mariji Ristić i Katarini Matejić koji su omogućili da se ovaj projekat nastavi i sprovede i kada je to delovalo nemoguće.

Hvala mojoj studentkinji Aleksandri Filipović, za njen entuzijazam i posvećenost, kao i za to što je unela radost u naš zajednički rad.

Beskrajno sam zahvalna laboratorijskom tehničaru Milutinu Laziću, koji je u najbukvalnijem smislu zaslužan što ovaj doktorat postoji, nesebičnim zalaganjem mi je omogućio da ispoštujem sve rokove. Veliko hvala laboratorijskom tehničaru Isidori Tasić, na njenoj nežnosti i dobroti.

Hvala glavnoj sestri Dragici Andrić jer razume i podržava svaki naš naučni rad. Hvala svim medicinskim sestrama sa mog odeljenja, a posebno Elizabeti Savić Jagodić koja je prirodni deo ovog tima, beskrajno sposobna i pouzdana.

Ogromnu zahvalnost dugujem molekularnim biolozima Jadranki Antić i Bojani Ilić jer je njihov rad prelepa finesa koja je moj rad učinila ekstravagantnim.

Hvala Prof. dr Tatjani Pekmezović, za višegodišnje poverenje, za vetar u leđa i za konstruktivne ideje koje su u ključnim momentima bile presudne.

Hvala svim lekarima Odeljenja za endokrine tumore i nasledne kancerske sindrome, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma: Prof. dr Đuri Macutu, Sanji, Tatjani, Ivani, Tamari, Valentini i Dušanu. Njihova podrška je u mom životu kontinuirana, nepresušna i neophodna.

Vanvremenski hvala mojoj porodici, jer su me uvek i u svemu podržavali na sve dostupne načine, hvala za strpljenje i razumevanje, a pogotovu hvala za ljubav i sigurnost.

Uticaj utreniranosti i polimorfizama u genima za glukokortikoidni, mineralokortikoidni i adrenokortikotropni receptor na fiziološku adaptaciju hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na hronično ponavljani fizički stress

Rezime

Uvod: Svaka forma stresa ima višestruke efekte na ceo organizam, ali reakcije i adaptacije različitih organskih sistema zavise od mnogih faktora, a prvenstveno od samog tipa stresa. Trening profesionalnih sportista predstavlja specifičnu formu stresa koji je dobrovoljan, intermitentan i kontrolisan, ali visokog intenziteta i kontinuirano ponavljan tokom dugog vremenskog perioda. Adaptacije na ovu formu stresa još uvek nisu u potpunosti definisane. Kao deo neuroendokrinih odgovora na stress, hipotalamo-hipofizno-nadbubrežna (HHN) osovina se aktivira tokom vežbanja, sa porastom nivoa kortizola kao krajnjim efektom ove aktivacije. Hronična hiperkortizolemija ima mnoge štetne efekte, ali porast nivoa kortizola tokom akutnog stresa je od izuzetnog značaja za metaboličke adaptacije, modulaciju imunskog sistema, kardiovaskularni odgovor i remodelovanje mišića. Ipak, ponavljani stress, bilo akutni ili hronični, modulira osetljivost HHN osovine, dovodeći do smanjenog odgovora na akutnu stimulaciju. Ovakva alostatka adaptacija je predložena i kod sportista. Međutim načini adaptacije još uvek nisu jasni, kao i nivo na kome se adaptacija dešava: smanjenjem osetljivosti nadbubrega na stimulaciju od strane adrenokortikotropnog hormona (ACTH), i/ili možda smanjenjem osetljivosti HHN osovine na negativnu povratnu spregu. Takođe, do sada nije ispitivano na koji način polimorfizmi gena za receptore hormona HHN osovine utiču na način odgovora na akutni fizički stress.

Ciljevi: Ispitali smo specifičnosti adaptacije HHN osovine kod profesionalnih sportista, izloženih ponavljanom, dugotrajnom fizičkom stresu. Ispitali smo postojanje faznog pomeranja normalnog cirkadijalnog ritma sekrecije kortizola i ACTH. Ispitali smo diferencijalni odgovor HHN osovine na akutni fizički stres u zavisnosti od utreniranosti i postojanja polimorfizama u genima za glukokortikoidni (GR), mineralokortikoidni (MR) i ACTH receptor. Takođe, ispitivali smo osetljivost negativne povratne sprege HHN osovine.

Materijal i metode: Studijsku grupu je činilo 3 grupe sportista (ukupno 55): 1) 21 vaterpolista, 2) 15 rvača, 3) 19 odbojkaša. Svi sportisti su se takmičili na najvišem nacionalnoj nivou, i ispitivani su u periodu priprema za takmičenje. Kao kontrolne grupe su ispitani sedentarni ispitanici upareni prema godinama: 1) 20 osoba muškog pola koji nisu bili

izloženi stresu - KN, 2) 21 osoba muškog pola izložena psihičkom stresu (studenti tokom ispitnog roka) - KS. Svim ispitanicima je vađena krv za određivanje: 1) jutarnjih vrednosti kortizola i ACTH, 2) vrednosti kortizola i ACTH tokom ergospirometrijskog testa i to u 4 vremena (mirovanje, početak testa, maksimalno opterećenje, 3. minut oporavka), 3) kortizola u deksametazonskom supresionom testu. Paralelno je vađena krv za genetičku analizu polimorfizama u genima za GR, MR i ACTH receptor. Prisustvo polimorfizama je detektovano metodama PCR, RFLP i sekvenciranjem DNK. Statistička analiza je rađena korišćenjem SPSS softvera.

Rezultati: Pokazali smo da su sportisti imali značajno više vrednosti kortizola u odnosu na KN u svim tačkama testa osim tokom oporavka, ali da su KN imale naglašeniji skok kortizola tokom opterećenja ($p=0.034$). Takođe, vrednosti kortizola tokom oporavka su padale kod sportista, dok su još uvek razle kod KN ($p=0.035$). Nasuprot tome, KS su imale više vrednosti kortizola iako bez statistički značajne razlike, uz atenuisan odgovor kortizola tokom stresa u odnosu na sportiste ($p=0.023$). Sportisti se u odgovoru ACTH na stress nisu razlikovali ni u odnosu na KN ni u odnosu na KS ($p>0.05$). Sportisti su imali značajno niže jutarnje vrednosti kortizola u odnosu na KS ($p=0.035$), dok se dve grupe nisu razlikovale u nivou supresije kortizola u prekonocnom deksametazonskom supresionom testu ($p=0.999$). Sportisti sa *BclI* polimorfizmom gena za glukokortikodini receptor su dostigli niže vrednosti kortizola pri maksimalnom naporu ($p=0.046$), dok je razlika u načinu odgovora dostigla statističku značajnost kod vaterpolista ($p=0.021$). Postojanje *N363S* polimorfizma nije značajno uticalo na odgovor kortizola kod sportista ($p>0.05$), ali su u grupi vaterpolista nosioci ovog polimorfizma imali značajan porast između MAX i O ($p=0.016$), dok su vrednosti padale kod onih bez polimorfizma. Sportisti nosioci *N363S* polimorfizma su imali značajno više vrednosti ACTH tokom svih merenja u testu ($p<0.05$) i naglašeniji odgovor između P i MAX ($p=0.027$). Postojanje ovog polimorfizma nije imalo značajan uticaj na odgovor kortizola i ACTH kod obe grupe kontrolnih ispitanika ($p>0.05$). Ostali polimorfizmi u genima za GR, MR i ACTHR (*A3669G*, *CTC→CCC*, *-2G/C*, *I807V*) nisu imali uticaja na odgovor kortizola i ACTH tokom akutnog opterećenja.

Zaključak: Naši rezultati ukazuju da je način odgovora HHN osovine na akutno fizičko opterećenje na kompleksan način uslovljen prethodnom utreniranošću. Sportisti, koji su hronično izloženi fizičkom stresu, imaju atenuisan odgovor na akutno fizičko opterećenje u odnosu na sedentarne ispitanike neizložene stresu, ali naglašeniji u odnosu na one koje su

izložene psihičkom stresu. Postojanje polimorfizama u genima za receptore hormona HHN osovine ima različit odgovor u zavisnosti od prethodne izloženosti stresu.

Ključne reči: stres, HHN osovina, polimorfizmi receptorskih gena

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Interna medicina - endokrinologija

Effect of training and polymorphisms in genes for glucocorticoid, mineralocorticoid, and adrenocorticotrophic receptor on physiological adaptation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis to chronic repeated physical stress

Abstract

Introduction: Any form of stress exerts profound effects on entire organism, but reactions and adaptations of different organ systems depend on many factors, notably a type of stress itself. Physical training of professional athletes comprises specific form of stress that is voluntary, intermittent and controllable, but of high intensity and repeated continuously over a long period of time. Adaptations to this form of stress are still under a lot of debate. Being a feature of neuroendocrine responses to stress, hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis is activated during exercise, with cortisol elevation as an endpoint of this activation. Chronic hypercortisolism has many deleterious effects, but cortisol rise during acute stress is of utmost importance for metabolic adaptations, immune system modulation, cardiovascular responses and muscle tissue remodeling. However, repeated stress, either acute or chronic, modulates the HPA axis sensitivity, leading to a reduced response to acute stimulation. This allostatic adaptation has also been proposed in athletes. Modes of this adaptation are still unclear, as well as the exact level of adaptation: decreased adrenal sensitivity to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) stimulation, and/or decreased HPA axis sensitivity to cortisol negative feedback. Likewise, so far it has not been investigated in which was specific polymorphisms in genes for receptors of hormones of HPA axis influence mode of response to acute physical stress.

Objective: We investigated specificities of HPA axis adaptation in professional athletes, exposed to repeated, long term physical stress. We analyzed presence of phase shift in normal circadian rhythm of secretion of cortisol and ACTH. We investigated differential HPA axis response to acute physical stress depending on level of training, and presence of polymorphisms in genes for glucocorticoid (GR), mineralocorticoid (MR) and ACTH receptor. Also, we analyzed sensitivity of HPA axis negative feedback.

Materials and methods: Study group consisted from 3 groups of professional athletes. (altogether 55): 1) 21 waterpolo player, 2) 15 wrestlers, 3) 19 volley ball players. All athletes competed at highest national level, and were tested during pre-competition season. Control group consisted from sedentary subjects matched by age: 1) 20 male subjects not exposed to

stress – KN, 2) 21 male subjects exposed to psychological stress (students during exams period) - KS. In all subjects we analyzed: 1) morning levels of cortisol and ACTH, 2) levels of cortisol and ACTH during continuous progressive exercise stress test on a treadmill, and at 4 time points (rest, beginning of test, point of maximal strain, and during 3. minute of recovery), 3) cortisol after overnight dexamethasone suppression test. Parallel to this, we analyzed genetic polymorphisms in genes for GR, MR i ACTH receptor, by means of PCR, RFLP and gene sequencing. Statistical analysis was performed with SPSS software.

Results: We have demonstrated that the athletes had significantly higher cortisol values compared to KN in all points in test except during recovery, but KN had more pronounced cortisol rise during strain ($p=0.034$). Likewise, cortisol levels were dropping during recovery in athletes, while they were still rising in KN ($p=0.035$). Unlike this, KS had higher cortisol values though without statistically significant difference, with attenuated cortisol response compared to athletes ($p=0.023$). There was no difference in ACTH response to stress between athletes and KN and KS respectively ($p>0.05$). The athletes had significantly lower morning cortisol values compared to KS ($p=0.035$), but two groups were not different in level of cortisol suppression after overnight dexamethasone suppression test ($p=0.999$). Athletes with *BcII* polymorphism of glucocorticoid receptor gene attained lower cortisol values during maximal strain ($p=0.046$), but the difference in way of response was statistically significant only in water polo players ($p=0.021$). Presence of *N363S* polymorphism did not have a significant influence on cortisol response in athletes ($p>0.05$), but water polo players with this polymorphism had significant rise between MAX and O ($p=0.016$), while the values were dropping in those without polymorphism. Athletes with *N363S* polymorphism had significantly higher ACTH values during all points in test ($p<0.05$), and a more pronounced response between P and MAX ($p=0.027$). This polymorphism did not have a significant influence on cortisol and ACTH response in both groups of athletes ($p>0.05$). Remaining polymorphisms in genes for GR, MR and ACTHR (*A3669G*, *CTC→CCC*, *-2G/C*, *I807V*) had no influence on cortisol and ACTH response during acute physical strain.

Conclusion: Our results demonstrate that HPA axis response to acute physical strain is affected by previous level of training in a complex manner. The athletes, chronically exposed to physical stress, have attenuated response to physical stress compared to sedentary controls unexposed to any type of chronic stress, but more pronounced compared to those exposed to psychological stress. Presence of specific polymorphisms in genes for receptors of hormones

of HPA axis has different influence on hormonal responses depending on previous level of training.

Key words: stress, HPA axis, athletes, receptor gene polymorphisms

Scientific area: Medicine

Scientific field: Internal medicine - endocrinology

SADRŽAJ

I	UVOD	1
1.	Stres - terminologija	1
2.	Endokrinologija stresa – fokus na fizički stres vežbanja	2
3.	Hipotalamo-hipofizno-nadbubrežna osovina	7
4.	Aktivacija HHN osovine – varijacije i modulacija	13
5.	Adaptacija HHN osovine – fokus na vežbanje	17
6.	Periferni efekti hormona HHN osovine – fokus na receptore	19
6.1.	Glukokortikoidni receptor	20
6.2.	Mineralokortikoidni receptor	23
6.3.	Adrenokortikotropni receptor	27
II	CILJEVI RADA	30
III	METODOLOGIJA	31
1.	Ispitanici	31
2.	Studijski protokol	32
2.1.	Ergospirometrija	32
2.2.	Hormonske analize	33
2.3	Genetička analiza	33
2.4.	Statistička analiza	35
IV	REZULTATI	37
1.	Akutno fizičko opterećenje – ergospirometrijski test	37
1.1.	Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa	38
1.2.	Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa	45
2.	Bazne vrednosti kortizola i ACTH	48
3.	Deksametazona supresija	49
4.	Genetička analiza	50
4.1.	Genotip glukokortikoidnog receptora	50

4.1.1.	<i>BclI</i> polimorfizam	50
4.1.2.	N363S polimorfizam	51
4.1.3.	A3669G polimorfizam u egzonu 9 β	52
4.2.	Genotip mineralokortikoidnog receptora	52
4.2.1.	Polimorfizam -2G/C	52
4.2.2.	Polimorfizam I180V	53
4.3.	Genotip adrenokortikotropnog receptora (MC2R)	54
5.	Diferencijalni odgovor kortizola tokom stresa u zavisnosti od genotipa	55
5.1.	Uticaj <i>BclI</i> polimorfizma	55
5.2.	Uticaj N363S polimorfizma	60
5.3.	Uticaj polimorfizma A3669G u 9 β egzonu GR	64
5.4.	Uticaj polimorfizma -2G/C gena za mineralokortikoidni receptor	66
5.5.	Uticaj polimorfizma I180V gena za mineralokortikoidni receptor	69
5.6.	Uticaj polimorfizma CTC \rightarrow CCC u promotorskom regionu gena za ACTH receptor	71
6.	Uticaj genotipa na jutarnje vrednosti kortizola i ACTH	73
7.	Uticaj genotipa na supresibilnost kortizola	76
V	DISKUSIJA	79
VI	ZAKLJUČCI	102
VII	LITERATURA	103

I UVOD

1. STRES - TERMINOLOGIJA

Gotovo čitav vek je protekao od kada je Walter Cannon u stručnu terminologiju uveo pojam “homeostaze” a zatim Han Selye uveo pojam “stresa”, međutim i dalje ne postoji univerzalna definicija stresa i stresora [1,2]. Jednu od verovatno najšire citiranih predložio je Bruce McEwen koji je definisao stres kao “stvarnu ili doživljenu opasnost za fiziološki ili psihološki integritet (tj. homeostazu) osobe, koja dovodi do fizioloških i/ili bihejvioralnih odgovora [3]. Posledično, svaka aktivnost, događaj ili stimulus koji uzrokuje stres može se smatrati stresorom. Kada stresor dovede do izmene u telesnim psihofiziološkim sistemima, karakterizacija odgovora individualnog sistema može se smatrati stresnim odgovorom, a signalni agensi sistema stresnim medijatorima.

Uloga medijatora stresnog odgovora je da pomogne organizmu da se akomodira i prilagodi stresoru, i time ubrza ponovno uspostavljanje homeostatskog ekvilibrijuma. Međutim, ukoliko je stresna situacija hronična, aktiviraju se fiziološki odgovori koji dovode do tzv. alostatskih promena. Za razliku od homeostaze koja predstavlja stabilnost kroz konzistentnost, alostaza predstavlja sposobnost organizma da održi stabilnost kroz promenu [4]. Drugim rečima, alostaza je aktivni process adaptacije koji uključuje glavne stresne efektorne sisteme a koji pokušavaju da izmene kontrolisanu varijablu putem predviđanja koji nivo će biti potreban kako bi se dosegla anticipirana potreba [5]. Efikasna alostaza sprečava nastanak oštećenja organizma. Obrnuto, ukoliko su alostatski odgovori prolongirani, neadekvatni ili prekomerno stimulirani, nastaje maladaptacija i oštećenje različitih organa [6]. Prema ovom modelu, alostatsko opterećenje predstavlja cenu koju organizam plaća usled kontinuiteta nametanja da se stalno adaptira na različite stresne (psihofiziološke) događaje. To znači da ukoliko je alostatsko opterećenje intenzivno i/ili perzistira, potencijalno raste rizik za nastanak određenih hroničnih poremećaja/bolesti [7].

Može se reći da je u modernom društvu izloženost različitim vrstama stresa univerzalna kategorija, bez obzira da li se radi o negativnom stresu (distresu) ili pozitivnom stresu (eustresu). Stres igra kritičnu ulogu u humanim interakcijama i fiziologiji. Klinički fokus je svakako efekat koji stres proizvodi na organizam, ali svaka

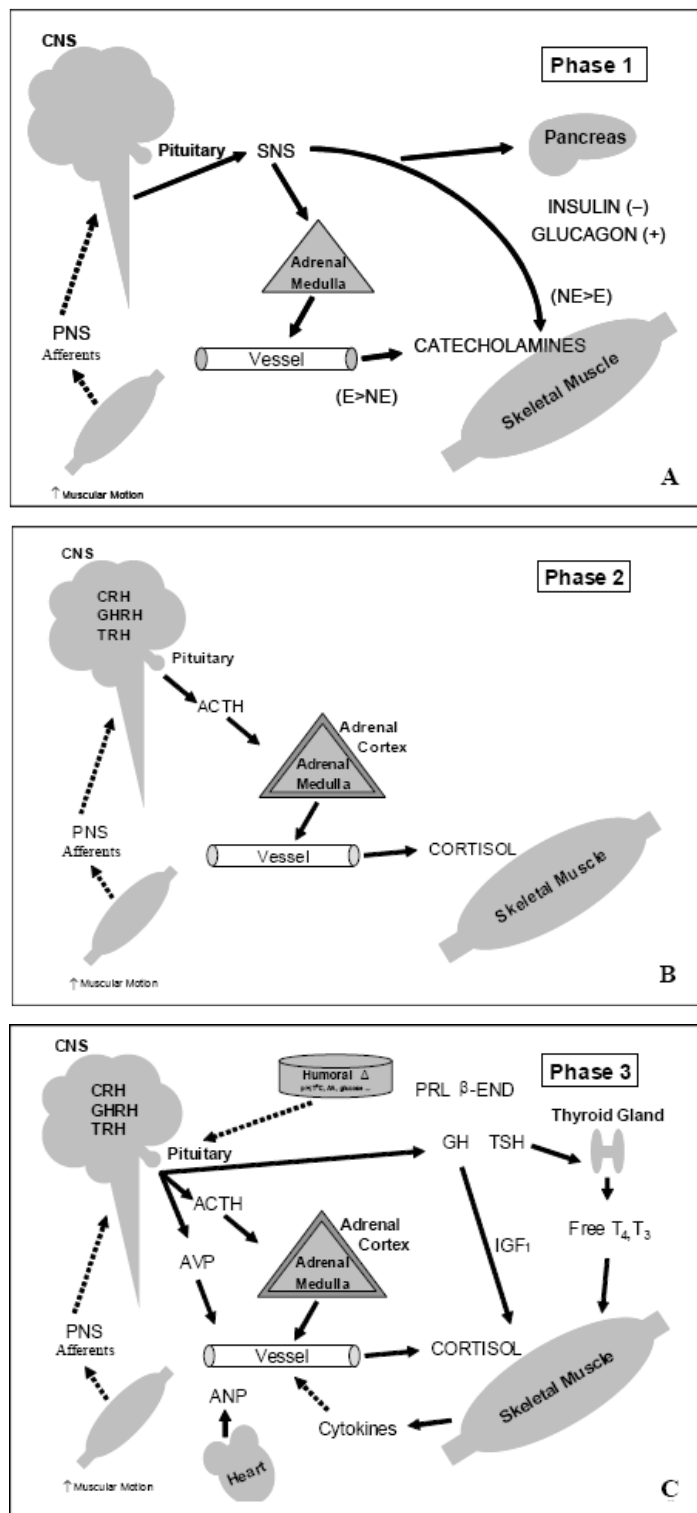
analiza bi trebalo da uključi intrinzičke karakteristike samog stresora, između ostalog da li je akutan ili hroničan, da li je predvidiv i da li je kontrolisan. Stresor je “kontrolisan” ukoliko jedinka može da uspostavi nekakav bihejvioralni odgovor kako bi pokrenula ili prekinula stimulus; slično ovome, stresor je “predvidiv” ukoliko se javlja u intervalima koji su ravnomerno raspoređeni u vremenu, ili su udruženi sa specifičnom najavom, obično od strane faktora sredine [8]. Nasuprot većini vrsta psihosocijalnog stresa koje se ne mogu niti predvideti niti kontrolisati, fizički stres vezan za vežbanje predstavlja suprotan model: može se i predvideti i kontrolisati.

Dodatno, iako fizički stres, kao i svaki drugi, predstavlja pretnju homeostazi, za razliku od psihosocijalnog stresa fizički stres nije udružen sa osećajem pretnje ili straha [9]. Sposobnost diferencijacije između bezopasnog (*harmless*) i štetnog (*harmful*) uticaja na homeostazu je kritičan faktor u podložnosti za neuropsihijatrijske poremećaje, kao što su posttraumatski stresni poremećaj i depresija. Još 70-ih godina prošlog veka izneta je teza da različiti stresori koji provociraju slične emocije kao što su strah i anksioznost, dovode sličnog neuroendokrinog odgovora [10]. Ovo je dovelo do savremene paradigme koja je zatim dokazana u više studija, a to je da je stresni odgovor stresor-specifičan i da zavisi (između ostalog) od načina na koji je ugrožena homeostaza, od toga kako jedinka percipira stresor, i od toga kako jedinka percipira sopstvenu mogućnost da se sa stresorom izbori [11]. U biološkom smislu, ova specifičnost nastaje usled interakcija između komponenti stresnog sistema, između stresnog sistema i drugih moždanih struktura koje su uključene u regulaciju emocija, kognitivnih funkcija i ponašanja, kao i osovina koje su odgovorne za reprodukciju, rast i imunitet [12]. Na neki način, svaki stresor ima svoj neurohemijski “potpis”, a adaptivni odgovor je genetski i konstituciono programiran, i konstantno se moduliše faktorima sredine.

2. ENDOKRINOLOGIJA STRESA – FOKUS NA FIZIČKI STRES VEŽBANJA

Fiziološki sistem koji je ekstremno reaktivan na stres je neuroendokrini sistem (NES). Štaviše, veliki broj kliničara i istraživača koristi odgovore NES kao sredstvo procene efekata stresa i reaktivnosti organizma na njega.

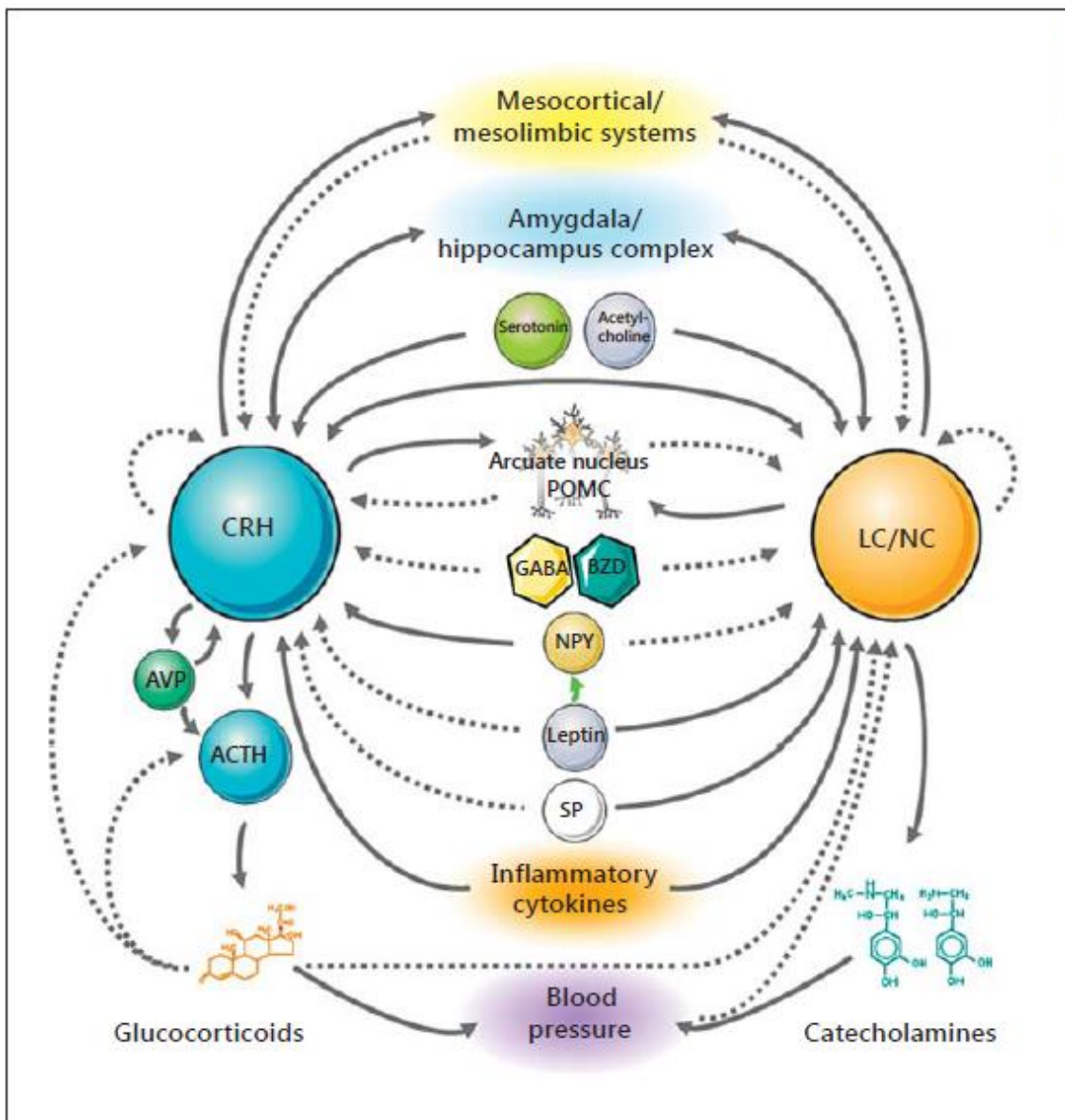
Aktivacija NES tokom bilo kog stresa, pa tako i tokom vežbanja, u osnovi je posledica porasta potrebe somatskih tkiva za energijom. S obzirom da će adrenalin povećati ćelijsku produkciju ATP (adenozin-tri-fosfata) a kortizol podsticati glikogenolizu i glukoneogenezu u jetri, logično je da će vežbanje dominantno regrutovati one sisteme koji su deo tzv. *fight-or-flight* reakcije (“bori se ili beži”), odnosno simpatički sistem i hipotalamo-hipofizno-nadbubrežnu osovinu (HHN) [13,14]. Pored ova dva dominantna sistema, u igri je kompleksan hormonski odgovor, delom i iz efektornih organa, a u cilju kontrole i regulacije funkcije različitih organskih sistema i fizioloških procesa kao što su kardiovaskularni i respiratorni sistem, metabolizam, imunski sistem, hidratacioni status, termoregulacija, varenje, rast-sazrevanje i reprodukcija [15]. Radi jednostavnijeg sagledavanja, neuroendokrini odgovor na fizički stres se može podeliti u 4 faze (slika 1): 1) nastaje tokom nekoliko sekundi od početka fizičkog opterećenja, karakteriše je aktivacija simpatičkog nervnog sistema, a manifestuje se povećanim oslobađanjem kateholamina; paralelno, dolazi do inhibicije pankreasne sekrecije insulina, a počinje stimulacija sekrecije glukagona; 2) druga faza počinje unutar prvog minuta fizičkog opterećenja, karakteriše se oslobađanjem tropnih hormona iz hipotalamusa (oslobađajući hormon kortikotropina (*corticotropin relasing hormone*) - CRH, oslobađajući hormon hormona rasta (*growth hormone releasing hormone*) – GHRH, tireotropin-oslobađajući hormon (*thyreotropin releasing hormone*) - TRH) koji stimulišu sekreciju ciljnih hormona iz hipofize (adrenokortikotropni hormon - ACTH, hormon rasta - HR i tireostimulirajući hormon - TSH); jedna od najbržih akcija u ovoj kaskadi je HHN osovina; 3) prolongirana, karakterisana pojačanim odgovorom simpatiko-nadbubrežne osovine pod stimulacijom hormona hipofize i odgovorom perifernih endokrinih žlezda koje su pod hipofiznom subordinacijom; dodatno, tokom ove faze skeletni mišići i srčani mišić počinju da oslobađaju u cirkulaciju sopstvene hormonima slične agense tj. citokine; hormoni i humoralni faktori preuzimaju dominaciju u regulaciji odgovora, što dovodi do porasta učešća kontrolnih mehanizama negativne povratne sprege; 4) kako se fizičko opterećenje završi nastupa oporavak (rani – tokom nekoliko minuta do nekoliko sati, kasni više sati nakon prestanka opterećenja), tokom koga NES kao i drugi organski sistemi pokušavaju da povrate homeostazu mirovanja [16].



Slika 1: Shematski prikaz odgovora NES na stres po fazama. CNS-centralni nervni sistem, PNS-periferni nervni sistem, SNS-simpatički nervni sistem, pituitary-hipofiza, adrenal medulla-nadbubrežna srž, adrenal cortex-nadbubrežna kora, pancreas-pankreas, skeletal muscle-skeletni mišić, vessel-krvni sud, heart-srce, catecholamines-kateholamini, NE-noradrenalin, E-adrenalin, ACTH-adrenokortikotropni hormon, cortisol-kortizol, CRH-kortikotropin oslobađajući hormon, GHRH-oslobađajući hormon hormona rasta, TRH-tireotropin oslobađajući hormon, PRL-prolaktin, β-END-β-endorfin, GH-hormon rasta, TSH-tireotropin, AVP-vazopresin [16]

Stresni sistem se formalno sastoji od centralnih i perifernih komponenti. Centralne komponente čine: 1) parvocelularni neuroni koji sekretuju CRH, 2) neuroni parvocelularnog nukleusa (PVN) hipotalamusa koji sekretuju AVP, 3) CRH neuroni koji formiraju paragigantocelularne i parabrahijalne nukleuse medule i lokus ceruleusa (LC), i 4) druge neuralne grupe u meduli i ponsu (LC/NE sistem) koje dominantno sekretuju noradrenalin (NE). Periferne komponente uključuju: 1) HHN osovину, 2) eferentne systemske simpatiko-adrenomedularne sisteme, i 3) komponente koje funkcionišu pod kontrolom parasimpatikusnog sistema [17]. Centralne i periferne komponente stresnog sistema imaju mnogo mesta interakcije sa drugim sistemima na multiplim nivoima (slika 2). Zaista, CRH neuroni aktiviraju LC/NE sistem i obrnuto. Stresni sistem aktivira mezokortikalni i mezolimbički dopaminergijski sistem nagrade, dok od njih dobija inhibitorne signale [11,18]. Stres takođe aktivira centralni nucleus amigdala koji učestvuje u generisanju straha i/ili ljutnje, a pozitivnom povratnom spregom dalje deluje na stresni sistem. Hipotalamusni PVN komunicira sa arkuatnim jedrom preko CRH neurona i indukuje oslobađanje alfa-melanocitno-stimulišućeg hormona (α -MSH) i beta-endorfina (β -endorfina) iz POMC neurona u arkuatnom jedru. Dodatno, dve centralne komponente stresnog sistema izgleda reaguju na mnoge neurohemijske modulatore, kao što su serotonin, i gama-amino-buterna kiselina (GABA) i benzodiazepine, što su sve inhibitori CRH neurona i LC/NE sistema. Konačno, stresni sistem akutno aktivira hipokampus – organ koji ima ključnu ulogu u formiranju memorije intermedijarnog trajanja – dok dobija negativan input, delimično putem negativne povratne sprege od strane cirkulišućih glukokortikoida (GC - *glucocorticoids*) u sklopu HHN osovine, delimično kao tonički input od stresnog sistema [19].

Aktiviranje stresnog sistema stimuliše budnost a suprimira spavanje; povećava srčanu frekvencu i krvni pritisak; stimuliše glukoneogenezu, glikogenolizu i lipolizu; inhibira rastenje, reproduktivnu i tiroidnu osovину; inhibira gastrointestinalni trakt na nivou želuca putem vagusnog nerva, a stimuliše na nivou debelog creva putem sakralnog parasimpatičkog nervnog sistema [20,21]. Poseban i kompleksan je efekat stresnog sistema na imunski sistem. Načelno i GC i kateholamini utiču na promet i/ili funkciju leukocita i akscesornih imunskih ćelija i suprimiraju sekreciju proinflamatornih citokina, dok obe familije hormona indukuju systemsku promenu sa TH1 odgovora (ćelijski imunitet) na TH2 odgovor /humoralni imunitet) [22].



Slika 2: Interakcije između centralnih i perifernih delova stresnog sistema. CRH-kortikotropin oslobađajući hormone, LC/NE-locus ceruleus/noradrenalin sistem, Mesocortical/mesolimbic systems-mezokortikalni/mezolimbički sistemi, Amygdala/hippocampus complex-amigdala/hipokampalni kompleks, Arcuate nucleus-arkuatno jedro, POMC-proopiomelanokortin, GABA-gama-amino-buterna kiselina, BZD-benzodiazepin, NPY-neuropeptid Y, SP-supstanca P, Inflammatory cytokines-inflamatorni citokini, Blood pressure-krvni pritisak, Catecholamines-kateholamini, Glucocorticoids-glukokortikoidi [11]

Kada se izolovano posmatra efekat GC, on je u određenom stepenu prisutan na nivou praktično svih organskih sistema. Kardiovaskularne promene su centralna odlika adaptacije na većinu fizičkih stresora. Od kada je Walter Cannon 1932. godine definisao

postulate „*fight or flight*“ reakcije, brza aktivacija kardiovaskularnog sistema se doživljava se kao *sine qua non* preživljavanja fizičkog stresora [23]. Dejstvo kortizola na kardiovaskularni sistem je višestruko. Delujući na glukokortikoidne receptore (GR) eksprimirane na kardiomiocitima kortizol utiče na srčanu kontraktilnost (pozitivno inotropno dejstvo) i masu [24]. Dejstvom na GR i mineralokortikoidne receptore (MR) utiče na porast arterijskog krvnog pritiska kako delovanjem na nivou bubrega (retencija natrijuma na nivou distalnog nefrona) tako i delovanjem na krvne sudove (smanjenje endotel-zavisne vazodilatacije, povećanje kontraktilnosti vaskularnih glatkih mišića povećanjem senzitivnosti na presorne agense kao što su kateholamini i angiotenzin II, povećanje sinteze angiotenzinogena) [23,24,25,26].

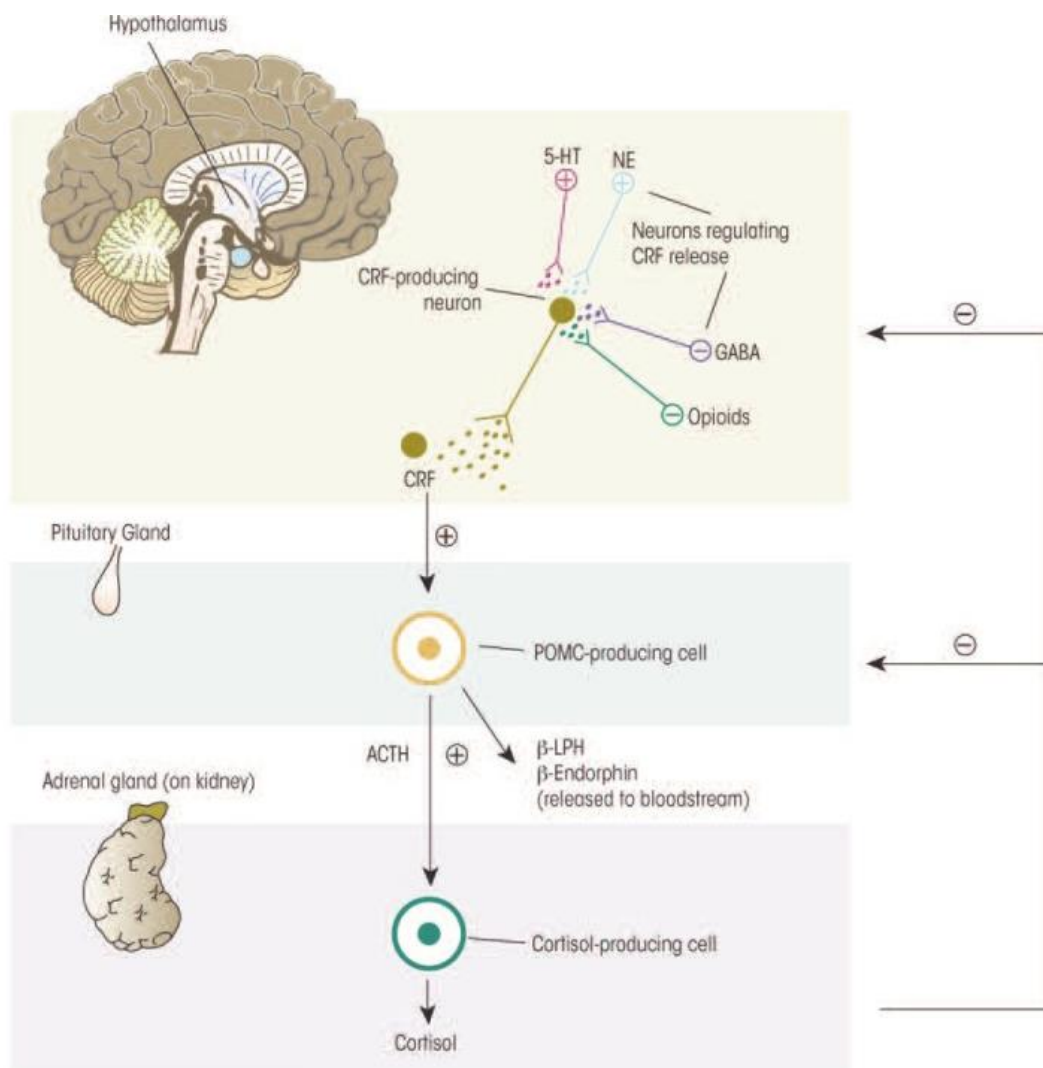
Drugi bitan aspekt stresnog odgovora odnosi se na metaboličku adaptaciju koja je usmerena ka mobilizaciji rezervi supstrata i njihovom preusmeravanju ka tkivima kojima su potrebni. Kortizol stimuliše glukoneogenezu u jetri, a s druge strane inhibira periferni transport i iskorišćavanje glikoze. Dodatno, lipolizom iz masnih ćelija mobilise lipide, a inhibicijom sinteze proteina i stimulacijom proteolize u različitim tipovima mišića mobilise aminokiseline [27]. Efekat kortizola je dodatno pojačan njegovom potencijacijom uloge kateholamina i glukagona. Krajnji rezultat je porast koncentracije glikoze na račun katabolizma proteina i lipida i nastanak insulinske rezistencije.

3. HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-NADBUBREŽNA OSOVINA

Hipotalamo-hipofizno-nadbubrežna osovina je precizno organizovan sistem sastavljen iz tri glavna segmenta, sa osnovim ciljem da se adekvatno prevaziđe izazov koji svaki stres nameće organizmu, a da se pri tom minimalizuju štetni efekti glukokortikoidnog ekscesa. Ovo se postiže međusobnom komunikacijom između samih segmenata HHN osivne, ali kako je već rečeno, i komunikacijom sa ostalim segmentima stresnog sistema, ali i određenim strukturama centralnog nervnog sistema i periferije (prvenstveno imunskog sistema).

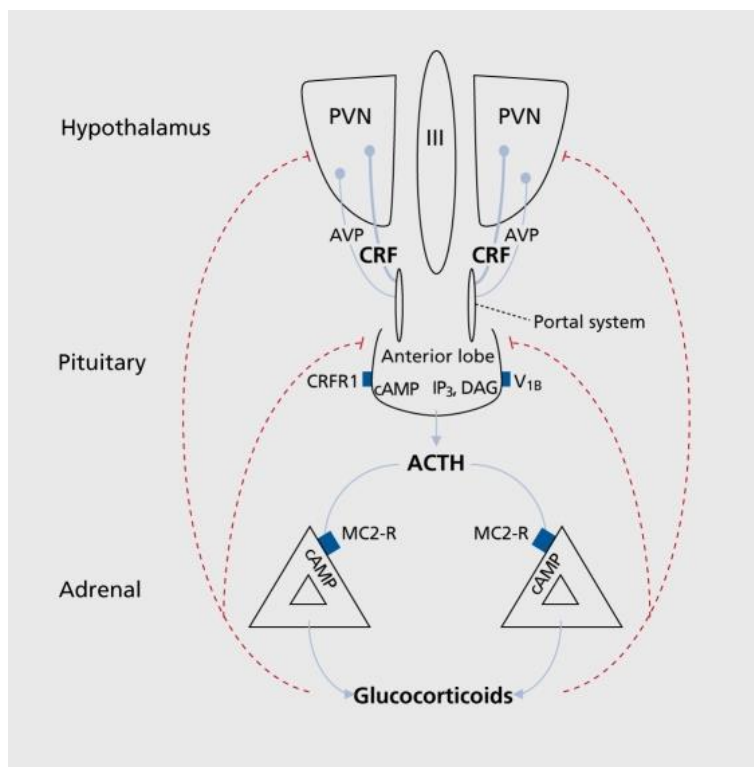
Neuroni PVN hipotalamusa sekretuju neurohormone CRH i AVP koji putem hipofizealnog portalnog sistema krvnih sudova stimulišu prednji režanj hipofize da sekretuje ACTH u sistemsku cirkulaciju. Adrenokortikotropni hormon zatim indukuje sintezu i oslobađanje hormona iz kore nadbubrežnih žlezda, a prvenstveno kortizola

[28] (slika 3). Osovina HHN ima svoj nivo aktivnosti kada je organizam u mirovanju, a poseban nivo aktivnosti je prisutan kao odgovor na mnoge različite cirkadijalne, neurosenzorne, humoralne i limbičke signale [29]. Ovi signali uključuju i citokine produkovane od strane imunski-posredovanih inflamatornih reakcija, kao što su tumor faktor nekroze α (TNF α), interleukin-1 (IL-1) i interleukin-6 (IL-6).



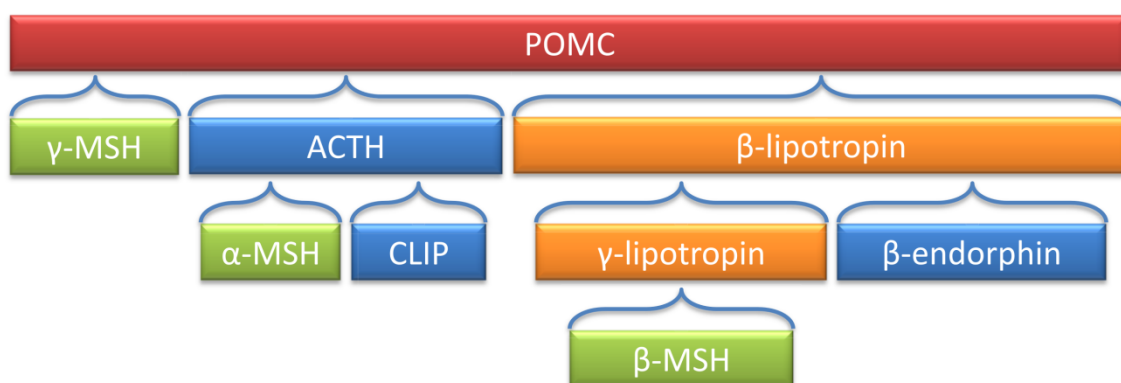
Slika 3: Organizacija HHN osovine. Hypothalamus-hipotalamus; Pituitary gland-hipofiza; Adrenal gland-nadbubrežna žljeza; 5-HT-serotonin; NE-noradrenalin; CRF-kortikotropin-oslobađajući faktor (hormon), GABA- γ -amino-buterna kiselina; Opioids-opioidi; POMC-proopiomelanokortin; ACTH-adrenokortikotropni hormon; β -LPH- β -lipotropin; β -endorphin- β -endorfin; cortisol-kortizol [28]

Kada su u pitanju modulatorni signali iz mozga, neki od njih imaju inhibitorni efekat (npr. γ -amino-buterna kiselina - GABA i opiodi), a neki imaju ekscitatorni efekat na PVN (npr. noradrenalin i serotonin) [28]. Kao odgovor na stimulaciju, ključno je oslobađanje CRH, koji svoje efekte ostvaranjem na dva tipa svojih receptora, od kojih su receptori tipa 1 (CRHR1) bogato eksprimirani u mozgu i hipofizi [30]. Vezivanje CRH za CRHR1 dovodi do stimulacije adenilat ciklaze i posledičnog aktiviranja cAMP puta koji kulminira oslobađanjem ACTH iz hipofiznih kortikotropnih ćelija. Vazopresin funkcioniše kao dodatak dejstvu CRH na stimulaciju sekrecije ACTH. Sam po sebi je slab stimulator ACTH, ali kada deluje u kombinaciji sa CRH, krajnji efekat je veći nego što bi se mogao dobiti prostim aditivnim efektom oba hormona [31]. Vazopresin deluje preko V1b receptora (poznatih i kao V3 receptori) na kortikotropima. Vezivanje AVP za V1b aktivira fosfolipazu C kuplovanjem za Gq proteine. Aktivacija fosfolipaze C stimuliše protein kinazu C, rezultirajući u potencijaciji oslobađanja ACTH (slika 4).



Slika 4: Ekspresija i raspored specifičnih receptora hormona HHN osovine. Hypothalamus-hipotalamus; Pituitary-hipofiza; Adrenal-nadbubrežna žlezda; PVN-paraventrikularno jedro; AVP-arginin-vazopresin, CRF-kortikotropin oslobađajući hormone; Portal system-portalni sistem; Anterior lobe-prednji režanj hipofize; CRFR1-CRH receptor tipa 1; IP3-inozitol-3-fosfat; DAG-diacil glicerol; ACTH-adrenokortikotropni hormon; MC2-R-melanokortinski receptor tipa2; Glucocorticoids-glukokortikoidi [30]

Kortikotropne ćelije prednjeg režnja hipofize proizvode ACTH selektivnim proteolitičkim procesiranjem proopiomelanokortina (POMC), koji je primarni sekretorni produkt ovih ćelija (slika 5). Ovo cepanje, nastalo pod dejstvom enzima prohormon konvertaza 1, rezultira u nastanku i sekreciji N-terminalnog peptida, ACTH₁₋₃₉ i β-lipotropin. Kortikotropi ne poseduju prohormon konvertazu 2, enzim neophodan za nastanak α-MSH (α-melanostimulirajućeg hormona) iz ACTH, kao u slučaju melanotrofa intermedijarnog lobusa ili POMC neurona u hipotalamusu [32].



Slika 5: Procesiranje proopiomelanokortinskog molekula [33]

Adrenokortikotropni hormon se vezuje za specifične receptore MC2R (melanokortinski receptori tipa 2) locirane na ćelijama zone fascikulate u kori nadbubrežnih žlezda (slika 4). Aktivacija MC2R stimuliše cAMP put koji indukuje steroidogenezu i sekreciju glukokortikoida, mineralokortikoida i androgenih steroida [34]. Preciznije, ACTH promovira konverziju holesterola u 5-5 pregnenolon što je inicijalni korak u biosintezi glukokortikoida. Dodatno, i kao što mu samo ime kaže, ACTH ima kritičnu ulogu u trofičkoj potpori adrenalnog korteksa. U odsustvu ACTH, kora nadbubrega podleže apoptozi i gubi sekretornu sposobnost [35]. Obrnuto, hronična ACTH stimulacija dovodi do porasta u veličini, broju ćelija i sekretornoj aktivnosti zone fascikulate [36].

Osnovni glukokortikoid produkovan u humanim ćelijama zone fascikulate nadbubrega je kortizol. Kortizol svoje biološke efekte ostvaruje aktivacijom intracelularnih kortikosteroidnih receptora: 1) mineralokortikoidni receptor (MR), ili tip 1 kortikosteroidnih receptora, i 2) glukokortikoidni receptor (GR), ili tip 2

kortikosteroidnih receptora. Glukokortikoidni receptori su ubikvitarno eksprimirani, i u perifernim tkivima i u mozgu, imaju mali afinitet a visoku senzitivnost: MR su eksprimirani samo u pojedinim tkivima, na periferiji dominantno u regijama dejstva aldosterona (bubreg, kolon), a u mozgu u ograničenom broju regiona, imaju visok afinitet a nisku senzitivnost [37]. Vezivanje kortizola za specifične receptore je u velikoj meri regulisano ekspresijom i delovanjem enzima 1) 11β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1 (11β -HSD1) koja regeneriše aktivni kortizol iz neaktivnog kortizona, i 2) 11β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 2 (11β -HSD2), koja konvertuje kortizol u kortizon [38].

Pored sistemskih perifernih efekata, cirkulišući GC imaju izuzetno važnu ulogu u kontroli nivoa aktivnosti HHN osovine, i to delovanjem negativnom povratnom spregom na segmente višeg ranga. Ovo je neophodno kako bi se pod kontrolom držali dominantno katabolički efekti GC, a koji zahtevaju strogu kontrolu kako organizam ne bi pretrpeo dugoročne izmene metaboličke funkcije koje mogu imati veoma negativne posledice. Ova inhibicija se ispoljava u nekoliko vremenskih domena, kao brza, odložena (ili intermedijarna) i spora povratna sprega [39]. Prva dva tipa su vezana za inhibiciju stimulisane HHN aktivnosti (vezano i za cirkadijalnu i stresom-indukovanu HHN aktivnost), dok spora povratna sprega odražava hroničnu izloženost glukokortikoidima tokom dana ili nedelja, a odnosi se i na bazalnu i na stimulisanu aktivnost. Efekat negativne povratne sprege se ispoljava i na nivou adenohipofize i na nivou hipotalamusa, ali i na nivou drugih moždanih struktura koje komuniciraju sa stresnom osovinom.

Iako su neki MR prisutni na ćelijama adenohipofize, GR efekti dominiraju na nivou hipofize, dok je inhibicija moždano-hipofizne jedinice regulisana preko MR [40]. Kao i na nivou kortikotropa, PVN i ostatak hipotalamusa eksprimiraju samo GR. Najveća ekspresija MR je na nivou hipokampusa i septuma, sa umerenim nivoima na nivou amigdala, nukleusima kranijalnih nerava, i na autonomnim putevima kao što su nukleus solitarnog trakta (NTS) i nukleus ambiguus. Glukokortikoidni receptori su eksprimirani na velikom broju moždanih nukleusa, uključujući i mnoge regije ekspresije MR.

Afinitet MR im omogućava da budu eksenzivno zauzeti na niskim cirkulišućim koncentracijama glukokortikoida, i smatra se da su bitni za ambijetalne signalne procese (npr. kontrola bazalne sekrecije tokom cirkadijalnog ciklusa) [41]. Nasuprot tome, GR

se okupira samo tokom perioda visokih cirkulišućih vrednosti GC, kao što se dešava tokom stresa. Imajući u vidu ovakav profil, nije iznenađujuće da je većina GC mehanizama negativne povratne sprege posredovana preko GR [42].

Interesantno je da kvalitativno različite povratne sprege, brza i spora, zapravo predstavljaju odraz različitih efekata GC na molekularnom nivou. Spora povratna sprega se ostvaruje klasičnim vezivanjem GC za intracelularne GR, koji se nakon aktivacije translociraju u jedro i vezuju sa specifičnim genskim sekvencama nazvanim GRE (*glucocorticoid-responsive elements* – elementi responsivni na glukokortikoide) i na taj način aktiviraju ili suprimiraju transkripciju ciljnih gena [43]. Za ispoljavanje genomske inhibicije je potrebno par sati. Međutim, najmoćnija inhibicija HPA osovine nastaje unutar par minuta od stimulacije [44]. Ovaj vremenski okvir je prekratak da bi bio posredovan genomskim efektima, i zapravo je posredovan negenomskim dejstvima [45]. Receptor koji posreduje negenomskim efektima još uvek nije sa sigurnošću definisan, ali aktuelno se smatra da su u pitanju dve forme GR: membranska forma klasičnog GR (mGR) i neklasični GR, takođe vezan za plazma membranu [46]. Vezivanje GC za ove membranske receptore na PVN CRH neurone pokreće intracelularnu kaskadu koj mobilise sintezu endokanabinoida. Oslobođanje endokanabinoida zatim indukuje presinaptičku inhibiciju oslobađanja glutamate, što smanjuje neuralnu aktivnost parvocelularnih neurona [47]. Osim na nivou PVN, važna mesta delovanja negativne povratne sprege su i hipokampus, kao i prelimbička i medijalna regija prefrontalnog korteksa [48].

Poremećaj homeostaze GC, opisan u različitim psihijatrijskim bolestima, delom je posledica i poremećaja na nivou negativne povratne sprege. Niži nivoi kortizola opisani kod pacijenata sa posttraumatskim stresnim poremećaje (PTSP) udruženi su sa pojačanom negativnom povratnom spregom, koja načelno znači niže bazne nivoe kortizola nakon deksametazonske supresije [49]. Suprotno, kod pacijenata sa depresijom je pokazano da određena subpopulacija ispoljava deficitarnu GC inhibiciju HPA osovine negativnom povratnom spregom, manifestovano odsustvom adekvatne supresije nakon primene deksametazona. Slično je opisano i u animalnim modelima hroničnog stresa, maternalne deprivacije ili *knock-down* (gašenja) GR na nivou limbičkih struktura. Kao rezultat ovih poremećaja u kvalitetu negativne povratne sprege, postoji tendencija ka povišenim baznim nivoima kortizola u deprsiji, a sniženim u PTSP.

4. AKTIVACIJA HHN OSOVINE – VARIJACIJE I MODULACIJA

Suštinski posmatrano, krajnji cilj aktivacije HHN osovine je porast nivoa GC (prvenstveno kortizola) koji zatim služe za mobilizaciju adekvatne količine energije, potrebne za zadovoljenje aktuelnih potreba. Glukokortikoidi su ključni za mobilizaciju energije i njenu distribuciju mnogim organskim sistemima, a potrebni su da obezbede dostupnost energije čak i u odsustvu stresa [50]. Drugim rečima, ova funkcija nije ekskluzivno vezana za stres, tj. stresni odgovor nije nužno primarna funkcija HHN osovine.

Tzv. bazna aktivacija HHN osovine vezana je za diurnalni, tj. cirkadijalni ritam. Ovaj ritam zapravo anticipira cirkadijalne ritmove u aktivnosti, sa pikom sekrecije i koncentracije GC unutar perioda od 2-4h oko buđenja, a nadirom koji se javlja u sličnom vremenskom okviru nakon početka spavanja. Kod ljudi koji su normalno diurnalno aktivni, pik sekrecije kortizola se dešava rano ujutru, a nadir oko 23 h [51]. Interesanto je da je kod glodara koji su aktivni noću ovaj ciklus obrnut. Cirkadijalni ritam se javlja u odsustvu svetlosti i zavisi od hipotalamusnog suprahijazmatskog nukleusa (SCN), i nezavisno od njega, od unosa hrane [52,53]. Hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovina ispoljava cirkadijalnu ritmičnost u odsustvu GC, ali nivo aktivnosti i amplituda su visoko senzitivni na inhibiciju negativnom povratnom spregom. Niske vrednosti GC potrebne da normalizuju cirkadijalni nadir ukazuje da bi regulacija negativnom povratnom spregom u ovo doba dana mogla biti posredovana MR [54]. Adekvatna regulacija cirkadijalne pik HHN aktivnosti zahteva i GR i MR. Ovaj efekat je konzistentan sa predviđenim kapacitetom GR da vezuje veće koncentracije GC, koje su i prisutne u ovom period.

Stresni odgovor se može smatrati “specijalnim slučajem” stimulacije HHN osovine, koji pojačava energetske nivo kada je to potrebno za adaptivne procese. Pri tome, stres može biti pravi ili doživljeni. Kako je već spomenuto, HHN odgovor zavisi od modaliteta stresora [48]. Dominantan efekat ima intenzitet stresora: visok intenzitet i dugo trajanje delovanja stresora (npr. inflamatorni stimulus) tipično izazivaju produžene odgovore srazmerno potrebi da se ograniče imunski odgovori. Kraći odgovori se tipično sreću nakon izloženosti psihološkim stresorima [50].

Slični postulati važe i kada je u pitanju odgovor HHN osovine na vežbanje. Kada je u pitanju aerobno vežbanje, vežbanje izdržljivosti (*endurance*) najvažniji

modulatori odgovora su dokazano intenzitet i trajanje [55]. Minimum intenziteta vežbanja (prag) potreban da bi se produkovao kortizol kao odgovor HHN osovine je 60% VO_2max ; nakon ovog praga, za vežbanje preko 60% VO_2max , koncentracija plazma kortizola raste linearno sa intenzitetom vežbanja [56]. Ispod ovog praga intenziteta, tj. tokom laganog, prolongiranog vežbanja, koncentracija ACTH i kortizola može da poraste, ukoliko se pređe prag trajanja koji je oko 90 minuta vežbanja na 40% VO_2max . Oba ova praga su nezavisna od nivoa utreniranosti. Drugim rečima, kada se vežbanje sprovede sličnim relativnim intenzitetom kod utreniranih i neutreniranih ispitanika, pragovi intenziteta i trajanja za vežbanjem-indukovano oslobađanje kortizola su slični [56].

I drugi specifični faktori modulišu odgovor kortizola na vežbanje: hipohidracija, obroci i doba dana. Nezavisno od spoljašnjeg termalnog stresa, hipohidracija (do 4.8% gubitka telesne mase) potencijalno naglašava vežbanjem-indukovan porast kortizola. Ovo pojačanje odgovora verovatno rezultuje iz povećane unutrašnje temperature i povećane kardiovaskularne potrebe usled smanjenja plazma volumena [57]. Obroci takođe stimulišu oslobađanje kortizola kod ljudi. Vežbanje neposredno nakon obroka dovodi do oslabljenog odgovora kortizola, a obrnuto, postprandijalni skok kortizola je oslabljen prethodnim vežbanjem [58]. Konačno, odgovor kortizola je značajno modulisan periodom dana, koji utiče na stepen porasta (veći je porast uveče nego ujutru) ali ne i maksimalni odgovor na vežbanje, pa zanemarivanje doba dana prilikom analize rezultata može dovesti do pogrešnih interpretacija [59].

Kada se tokom dana treninzi sprovedu nekoliko puta dnevno, vreme oporavka između treninga takođe može uticati na odgovor HHN osovine na naredne treninge. U jednom eksperimentu su treninzi elitnih sportista sprovedeni u trajanju od 75 minuta na 75% VO_2max [60]. Odgovor kortizola i ACTH je bio naglašeniji kada je naredna sesija sprovedena nakon 3 h nego nakon 6 h. Pojačanje HHN aktivnosti se desilo uprkos kompletno normalizovanim vrednostima kortizola i ACTH između dve sesije vežbanja. Ovi podaci podržavaju hipotezu da je trajanje odmora između prvog i drugog treninga značajna determinanta magnitude odgovora kortizola nakon reaktivacije HHN osovine. Konačno, kako kortizol takođe priprema organizam za sledeću epizodu vežbanja (konsolidovanjem rezervi glikogena u mišićima i gašenjem mišićnih inflamatornih reakcija), kada se akutna epizoda intenzivnog ili prolongiranog vežbanja završi, nivo

kortizola može da se vrati na vrednosti pre vežbanja sa odlaganjem. Ovo odlaganje ne prelazi 150 minuta nakon završetka vežbanja.

Vežbanje sa otporom, tj. vežbanje snage (*resistance*) je takođe potentan stimulus HHN osovine. Dva glavna faktora modulišu odgovor HHN osovine na vežbe snage: intenzitet i volumen (broj setova x broj ponavljanja x intenzitet) vežbanja. Protokoli snage, umerenog do visokog intenziteta, visokog volumena, koji opterećuju velike mišićne grupe i koji uključuju kratke periode odmora, dovode do najvećeg porasta ACTH i kortizola [61]. Uloga kortizola tokom vežbi snage je višestruka: zadovoljavanje velikih metaboličkih potreba, remodelovanje mišića s obzirom da kortizol reguliše proteinski sastav mišića (inhibicija sinteze proteina, a stimulacija degradacije proteina), uticaj na neuromuskularnu funkciju [62].

Tip mišićne kontrakcije takođe može modulirati odgovor HHN osovine na vežbanje snage. Podizanje tereta tokom vežbe dinamičkog otpora zahteva produkciju sile tokom skraćanja mišića (koncentrična kontrakcija), dok spuštanje tereta (ekscentrična kontrakcija) zahteva produkciju sile tokom produženja mišića. Trening snage se obično izvodi sa koncentričnim i ekscentričnim kontrakcijama pri istom konstantnom opterećenju. Ekscentričan trening ima nekoliko prednosti kada je u pitanju slično mišićno opterećenje: tokom vežbi snage, efekat gravitacije i mehaničke osobine sarkomera i vezivnog tkiva skeletnih mišića dozvoljavaju veće mišićno opterećenje tokom ekscentrične mišićne kontrakcije (produženje mišića) nego kod koncentrične (skraćanje mišića) [63]. Prema tome, ima dokaza da prilikom sličnog mišićnog opterećenja, nivo kortizola tokom vremena raste manje prilikom koncentričnih nego prilikom ekscentričnih mišićnih aktivnosti [61].

Posmatrajući stres uopšteno, postoje i drugi modulatori stresnog odgovora. Možda najizraženiji fiziološki modulatori HHN osovine su gonadalni steroidi. Veliki broj studija je potvrdio značajnu polnu razliku i u veličini i u trajanju stresnih odgovora u zavisnosti od muških (testosteron) i ženskih (estradiol – E2) polnih hormona, međutim, rezultati nisu konzistentni. Inicijalne studije su demonstrirale da testosteron inhibira reaktivnost na stres, a estradiol je pojačava [64,65]. Životinje u estrusu (visok estradiol) i proestrusu (visok estradiol i visok progesterone) imale su povišen bazni kortikosteron, viši pik kortikosterona pri naporu, i odloženu normalizaciju vrednosti na baznu. Bitno je i to da je izgleda mesto delovanja E2 nadbubrežna žlezda, tj. E2 povećava osetljivost nadbubrega na ACTH.

Ovaj seksualni dimorfizam je demonstriran i kod ljudi, međutim ima i određenih nepoklapanja u zaključcima različitih studija. U inicijalnim studijama nisu demonstrirane razlike u responsivnosti HHN u zavisnosti od menstrualnog ciklusa, međutim korišćenje standardizovanih stresnih protokola je potvrdilo značajnu varijabilnost, sa generalno većom responsivnošću u lutealnoj fazi [66]. Odgovor salivarnog kortizola u lutealnoj fazi je sličan odgovoru kod muškaraca, i kod obe ove grupe veći od odgovora u folikularnoj fazi i kod žena koje su koristile oralne kontraceptive [67]. Slične vrednosti ACTH kod žena u folikularnoj i žena u lutealnoj fazi govore u prilog povećane adrenalne senzitivnosti. Takođe, vrednosti ACTH su bile veće kod muškaraca u odnosu na sve grupe žena, što ukazuje da je hipotalamusni odgovor na stress izraženiji kod muškaraca nego kod žena. Međutim, razlika u vrednostima salivarnog kortizola se gubi kada se poredi odgovor plazma kortizola, dakle vezanog za kortizol-vezujući-globulin (CBG – *cortisol binding globulin*), čija sinteza direktno zavisi od estrogena i ovo makar delimično objašnjava razliku u odgovoru salivarnog kortizola. Nasuprot ovim rezultatima, najveća sprovedena studija do sada demonstrirala je da su u odnosu na žene u folikularnoj fazi menstrualnog ciklusa muškarci imali naglašeniji odgovor na psihološki stress test od strane i ACTH i salivarnog i plazma kortizola [68]. Još su interesantniji rezultati koji su pokazali da postoje razlike u odgovoru na neke vrste stresora između gonadektomisanih životinja oba pola: u slučaju pojedinih stresora, gonadektomisane ženke su imale naglašeniji odgovor HHN osovine [69]. Ovo ukazuje da polni dimorfizam u stresnom odgovoru nije prosta posledica polnih hormona, već po svemu sudeći i razlika na nivou viših struktura centralnog nervnog sistema.

Godine starosti takođe imaju izuzetno veliki uticaj na funkcionisanje HHN osovine, kako u nestimulisanim, tako i u stimulisanim uslovima. Nakon perioda dobre responsivnosti na stres viđene kod novorođenčadi, kroz detinjstvo se ispoljava period tzv. hiporeaktivnosti na stres, čiji stepen i trajanje izgleda zavise od roditeljske brige i socijalne stimulacije [70]. Starenje pojačava bazalnu aktivnost HHN osovine i njen odgovor na stres [71]. Smatra se da je ovo posledica gubitka negativne povratne sprege, primarno kroz gubitak GR na nivou hipokampusa [72].

Konačno, HHN osovina i imunski sistem su usko recipročno povezani. Receptori za nekoliko citokina su demonstrirani na nadbubrežnim žlezdama, na anteriornom režnju hipofize i određenim moždanim strukturama [73]. Većina citokina

stimuliše HHN osovinu, a povišen nivo citokina, naročino IL-6 (interleukin-6), je konstatovan i u situacijama neimunskih stresora, i doprinosi aktivnosti HHN osovine [74].

5. ADAPTACIJA HHN OSOVINE – FOKUS NA VEŽBANJE

Hronična izloženost stresu dovodi do značajnih promena i na nivou bazne funkcije HHN osovine i na nivou njene responsivnosti na stres: 1) povećana je ekspresija CRH i AVP, a povećana je i ekscitabilnost CRH neurona u PVN, 2) povećana je CRH/AVP kolokalizacija i oslobađanje CRH u eminenciju medijanu i portnu hipofiznu cirkulaciju, 3) povećana je ekspresija gena za CRHR1 i V1b, i senzitivnost na CRH i AVP na nivou hipofiznih kortikotropa, 4) dolazi do adrenalne hipertrofije i pojačane adrenalne senzitivnosti na ACTH [75]. Sve promene su konzistentne sa povećanim potencijalom HHN osovine za aktivaciju.

Uprkos ponavljanoj izloženosti stresu, stresni odgovor HHN osovine na novi stresor se ili održava ili je pojačan, što ukazuje na postojanje mehanizama koji aktiviraju HHN osovinu uprkos pojačanom signalu negativne povratne sprege koji generišu epizodična ili kumulativna izloženost GC [76]. Izloženost prethodnom stresoru pojačava GC odgovor na narednog stresora, što dovodi do bržeg početka oslobađanja GC i višeg pika GC na sukcesivni stimulus. Ovaj process se naziva facilitacija i posredovana je makar delom porastom oslobađanja ACTH ili pojačanom osetljivošću nadbubrega [77].

Međutim, ponavljana izloženost istom stresoru (tzv. homotipski stresor), može dovesti do habituacije HHN odgovora, karakterisane smanjenim GC odgovorom tokom vremena [78]. Da li će doći do habituacije zavisi najpre od prirode stresora. Pa se tako odgovor na “ozbiljnije” stresore (kao što je npr. ponavljana izloženost predatoru) održava tokom vremena. Pokazano je i da je habituacija češća u slučaju psiholoških stresora, koji su dominantno procesivni stresori, a ne kod sistemskih stresora koji uključuju neposrednu fizičku opasnost [79]. Habituacija ima bitan evolutivni značaj jer snižavanjem odgovora na stresore koji nisu životno ugrožavajući, omogućava konzerviranje energije i resursa [80]. U ekstremnim situacijama, odsustvo habituacije na ponavljani psihološki stres kod ljudi može biti uzrok poremećajima kao što su depresija

i posttraumatski stresni poremećaj (PTSP) [81]. Rezultati istraživanja ukazuju da je pad u aktivnosti HPA osovine posredovan MR [82].

Ovakva vrsta alostatske adaptacije je svojevremeno opisana i kod sportista: u poređenju sa sedentarnim ispitanicima odgovor HHN osovine utreniranih osoba na akutno fizičko opterećenje je atenuisan kada se normalizuje prema apsolutno primenjenom opterećenju [83]. Odgovor ACTH i kortizola na akutno opterećenje nakon 6 nedelja treniranja je bio snižen kod pacova koji su vežbali umerenim intenzitetom [84]. Nakon treninga izdržljivosti, kod osoba koje nisu pretrenirane, porast kortizola izazvan vežbanjem se održava 120-150 minuta i nakon toga se vrednosti vraćaju na one pre vežbanja. Ima dokaza da je sekrecija kortizola suprimovana u noći nakon dana kada se sprovodi aerobni trening [85]. Dodatno, što je vežbanje tokom dana bilo intenzivnije, to je, to je supresija sekrecije kortizola tokom noći bila intenzivnija. Dvadesetčetvoročasovni urinarni slobodni kortizol UFC (*urinary free cortisol*) je bio u referentnom opsegu kod sportista tokom dana kada su trenirali/takmičili se [86]. Takođe, ove vrednosti se nisu značajno razlikovale u odnosu na neutrenirane ispitanike [87]. Nešto je drugačije kod anaerobnog vežbanja (vežbe snage): kortiozol kraće ostaje povišen, i nema značajne prekonoćne supresije sekrecije kortizola [88].

Jedan od važnih aspekata redovnog vežbanja je taj da je konsekutivni stresni odgovor na različite životne stresore atenuisan kod osoba koje su u treningu. Atenuisan odgovor na psihosocijalni stressor je potvrđen kod žena koje su bile fizički aktivne u poređenju sa ženama koje su bile više sedentarne [89]. Ove i slične studije su dovele do razmatranja da bi fizičko vežbanje moglo biti deo terapijskih protokola u bavljenju zdravstvenim problemima izazvanim stresom.

Posebne situacije su dva aspekta prekomerne utreniranosti (*overreaching* – *OR* i *overtraining* – *OT*). Oba stanja nastaju nakon vežbanja koje je ekscesivnog intenziteta ili trajanja i kao takvo dovodi do neadekvatnih neuroendokrinih stresnih odgovora [90]. I OR i OT nastaju odna kada stress vežbanja nametne organizmu napor koji je u biti štetan (drugim rečima, nametne mu ekscesivan alostatski teret). Posledično, ovo može indukovati maladaptaciju kod sportista i kompromitovati njihovu sposobnost da se dalje takmiče. Neuroendokrini stresni odgovor u OR/OT je dvofazni: inicijalnu hiperaktivnu fazu prati kasna hipoaktivna faza [91,92]. Interesantno, u nekim situacijama tokom OR, ukoliko se sportistima obezbedi kratkotrajan period odmora i oporavka, može zapravo doći do kompenzacije sa adaptacijom koja je veća nego uobičajeno, i može doći do

poboljšanja atletskih performansi [93]. Neuroendokrini hipoaktivna faza izgleda korespondira sa tačkom OT i/ili manifestacijama OT sindroma. Kako process napreduje, neuroendokrini funkcija postaje suprimovana za određene hipotalamusne, hipofizne i nadbubrežne hormone (ACTH, LH, FSH, kateholamini i kortizol). Ovo stanje je daleko ozbiljnije i zahteva nedelje ili mesece da bi se sportista oporavio i povratio normalnu endokrini funkciju.

6. PERIFERNI EFEKTI HORMONA HHN OSOVINE – FOKUS NA RECEPTORE

Svi hormoni uključeni u stresni odgovor svoja periferna dejstva ostvaruju vezivanjem za specifične receptore.

Kao što je već rečeno, kortizol svoje biološke efekte ostvaruje aktivacijom intracelularnih kortikosteroidnih receptora: 1) mineralokortikoidni receptor (MR), ili tip 1 kortikosteroidnih receptora, i 2) glukokortikoidni receptor (GR), ili tip 2 kortikosteroidnih receptora. GR su ubikvitarno eksprimirani, imaju mali afinitet a visoku senzitivnost, dok su MR eksprimirani samo u pojedinim tkivima, imaju visok afinitet a nisku senzitivnost. Vezivanje kortizola za specifične receptore je u velikoj meri regulisano ekspresijom i delovanjem enzima 1) 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1 (11 β -HSD1) koja regeneriše aktivni kortizol iz neaktivnog kortizona, i 2) 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 2 (11 β -HSD2), koja konvertuje kortizol u kortizon [94].

I GR i MR su značajno eksprimirani u kardiovaskularnom sistemu, uključujući zid krvnih sudova i miokard, a u eksperimentalnim modelima na srcu pacova i ljudi dokazani su niski nivoi 11 β -HSD1 i 11 β -HSD2 [95]. Kardiovaskularne promene su centralna odlika adaptacije na većinu fizičkih stresora. Od kada je Walter Cannon 1932. godine definisao postulate „*fight or flight*“ reakcije („bori se ili beži“), brza aktivacija kardiovaskularnog sistema se doživljava se kao *sine qua non* preživljavanja fizičkog stresora [23]. Dejstvo kortizola na kardiovaskularni sistem je višestruko. Delujući na GR eksprimirane na kardiomiocitima kortizol utiče na srčanu kontraktilnost (pozitivno inotropno dejstvo) i masu [94]. Dejstvom na GR i MR utiče na porast arterijskog krvnog pritiska kako delovanjem na nivou bubrega (retencija natrijuma na nivou distalnog

nefrona) tako i delovanjem na krvne sudove (smanjenje endotel-zavisne vazodilatacije, povećanje kontraktilnosti vaskularnih glatkih mišića povećanjem senzitivnosti na presorne agense kao što su kateholamini i angiotenzin II, povećanje sinteze angiotenzinogena) [23,94,95,96].

Drugi bitan aspekt stresnog odgovora odnosi se na metaboličku adaptaciju koja je usmerena ka mobilizaciji rezervi supstrata i njihovom preusmeravanju ka tkivima kojima su potrebni. Kortizol stimuliše deponovanje glikogena i glukoneogenezu u jetri, a s druge strane inhibira periferni transport i iskorišćavanje glikoze. Dodatno, lipolizom iz masnih ćelija mobilise lipide, a inhibicijom sinteze proteina i stimulacijom proteolize u različitim tipovima mišića mobilise aminokiseline [97]. Efekat kortizola je dodatno pojačan njegovom potencijacijom uloge kateholamina i glukagona. Krajnji rezultat je porast koncentracije glikoze na račun katabolizma proteina i lipida i nastanak insulinske rezistencije.

Metabolička uloga kortizola kao posledicu ima i promenu telesnog sastava. Kortizol stimuliše diferencijaciju adipocita, promovišući adipogenezu putem transkripcione aktivacije ključnih gena diferencijacije kao što su geni za lipoproteinsku lipazu, glicerol-3-fosfat dehidrogenazu i leptin. Dugotrajni efekat je stimulacija deponovanja masnog tkiva visceralno i centralno, što se može objasniti većom ekspresijom GR i 11β -HSD1 u omentalnom u odnosu na subkutano masno tkivo [96]. Na nivou mišićnog tkiva, kortizol izaziva atrofiju (ali ne nekrozu) i smanjuje sintezu proteina.

Iz prethodnog se vidi da širok dijapazon funkcija kortizola utiče na svaki aspekt homeostaze bilo u mirovanju bilo u stresu, uključujući i veliki broj gena eksprimiranih od strane imunog sistema [98]. Priroda fiziološkog odgovora ali i senzitivnost variraju među vrstama, osobama, tkivima, ćelijskim tipovima, pa čak i tokom ćelijskog ciklusa, usled postojanja mnogobrojnih nivoa regulacije funkcije ubikvitarno rasprostranjenih GR, kao i usled svih efekata ispoljenih vezivanjem za MR.

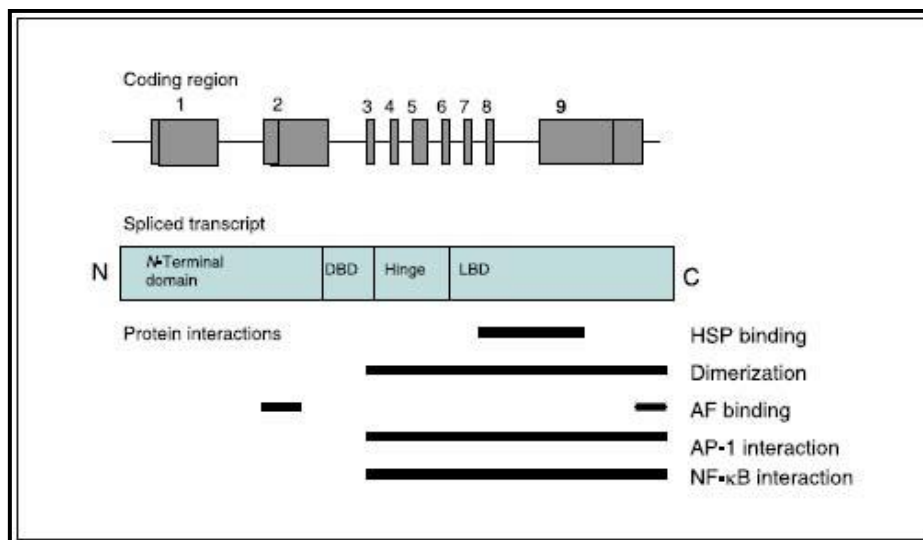
6.1. GLUKOKORTIKOIDNI RECEPTOR

Glukokortikoidni receptor je gotovo ubikvitarno eksprimiran u organizmu, tj. gotovo da nema tkiva bez ekspresije GR. Detektuje se i u gotovo svim regijama u

mozgu, sa naročito visokom ekspresijom na nivou hipokampusa [99]. Ekspresija GR je potvrđena čak i na nivou kore nadbubrežne žlezde, a naročito u nivou zone reticularis [100,101,102].

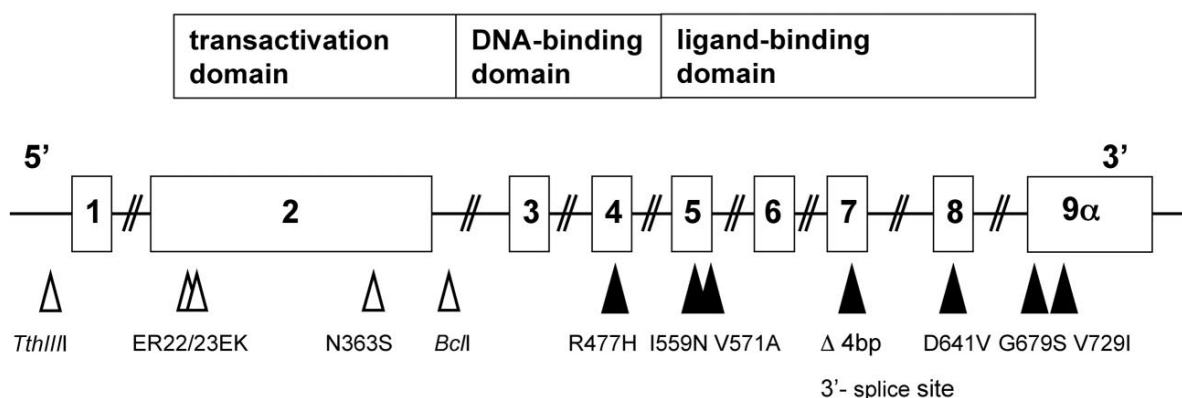
Glukokortikoidni receptor pripada filogenetski konzerviranoj superfamiliji nuklearnih hormonskih receptora koji funkcionišu kao ligand-zavisni transkripcioni faktori [103]. Kao i drugi članovi ove superfamilije, GR ima karakterističnu strukturu sastavljenu iz tri domena: 1) N-terminalni domen, odgovoran za aktivaciju ciljnih gena i interakciju sa transkripcionim faktorima; 2) DNK-vezujući domen, koji učestvuje i u translokaciji receptora u jedro, receptorskoj dimerizaciji, i transaktivaciji; 3) C-terminalni domen, koji funkcioniše kao ligand-vezujući domen a učestvuje i u stabilizaciji receptora u vezanom i nevezanom stanju, kao i u interakciji sa transkripcionim faktorima. Slobodan GR se nalazi u citoplazmi ćelija i to u vidu multiproteinskog kompleksa sastavljenog od receptora, dva molekula hsp90 (*heat-shock proteine 90*), hsp70, hsp56, hsp40, molekula p23 i imunofilina. Nakon vezivanja liganda dolazi do konformacione promene koja omogućava oslobađanje GR od hsp, njegovu aktivaciju i translokaciju u jedro. U jedru GR homodimerizuje, prepoznaje i intereaguje sa specifičnim genskim sekvencama nazvanim GRE (*glucocorticoid-responsive elements*) i aktivira ili suprimira transkripciju ciljnih gena. Aktivacija i represija ciljnih gena mogu nastati i indirektno, putem interakcije GR sa drugim transkripcionim faktorima (npr. STAT, NF κ B, AP-1, Smad3) [100]. S obzirom da je GR kodiran od strane jednog gena, evolutivno je favorizovan nastanak različitih receptorskih izoformi koje su obezbedile specifičnije stimuluse na ćeliju, u smislu i ćelijske i tkivne specifičnosti [104].

Gen za GR je lociran na hromozomu 5q11-q13, i ubikvitarno rasprotranjen u ćelijama ljudskog organizma (slika 6). Sastoji od 10 egzona (1-8, 9 α i 9 β), pri čemu protein kodirajući regioni počinju od 2. egzona. Promotorski region (kojih ima najmanje 3 različita tipa) sadrži oko 15 jedinstvenih veznih mesta za transkripcione faktore, što sve omogućava različitu regulaciju ekspresije GR proteina u različitom signalnom okruženju. Varijabilnosti doprinosi i alternativno sečenje (*splicing*) na nivou 9. egzona. U zavisnosti da li se u konačnoj informacionoj RNK (iRNK) nađu 9 α ili 9 β egzon, nastaju dve izoforme GR, GR α i GR β [105]. GR α vezuje klasične receptorske agoniste, dok ih GR β ne vezuje i ne intereaguje sa GRE, ali ispoljava inhibitorni efekat na GR α .



Slika 6: Gen glukokortikoidnog receptora i glukokortikoidni receptor

Na modulaciju aktivnosti GR utiču i mnoge post-translacione promene kao fosforilacija, ubikvitinacija i sumoilacija (*SUMO-small ubiquitin-related modifier*), mutacije gena za GR, i specifični polimorfizmi ovog gena, koje su poslednjih godina predmet intenzivnog proučavanja. Polimorfizmi gena za GR su detektovani i u egzonima i u intronima. Egzonski dovode do promena u sastavu aminokiselina u završnom proteinu, a intronski utiču na regulaciju ekspresije samog gena (alternativni načini i efikasnost prepisivanja gena, aktivnost promotora, efikasnost translacije ili skraćivanje gotovog proteina ubacivanjem stop kodona). Različiti polimorfizmi se često javljaju u kombinaciji, a 3 najviše ispitivana su *BclI*, *N363S* i *ER23/22EK* (slika 7).



Slika 7: Polimorfizmi (bele strelice) i mutacije (crne strelice) gena za glukokortikoidni receptor

Značaj ovih polimorfizama za nastanak različitih patoloških poremećaja bio je predmet istraživanja mnogih studija koje su ispitivale parametre osetljivosti HHA

osovine, indeks telesne mase, arterijski krvni pritisak, markere metaboličkog sindroma i gustine kostiju. Sve ove studije imaju uglavnom konkordantne rezultate, ali i određena nepoklapanja. *BclI* i N363S polimorfizmi se generalno smatraju udruženim sa povećanom osetljivošću na glukokortikoide. Ovo je pokazano povećanom osetljivošću HHN osovine na supresiju deksametazonom (0.25 mg DEX), većim indeksom telesne mase i asocijacijom sa postojanjem abdominalne visceralne gojaznosti kod nosilaca ovih polimorfizama [106]. Nasuprot tome, ER22/23EK polimorfizam se generalno smatra udruženim sa povećanom rezistencijom na glukokortikoide, što je u studijama demonstrirano smanjenim odgovorom na deksametazonsku supresiju i povoljnijim metaboličkim profilom i telesnim sastavom [107].

Međutim, pojedine studije nisu dokazale ovakve asocijacije. Studija na nemačkoj kohorti pacijenata sa depresijom je ispitala uticaj postojanja ER22/23EK, N363S i *BclI* polimorfizama na odgovor kortizola i ACTH na deksametazonsku supresiju a zatim stimulaciju sa CRH, međutim nije potvrđen značajan uticaj genotipa [108]. Jak uticaj postojanja N363S i *BclI* polimorfizama je potvrđen u odgovoru HHN osovine na psihosocijalni stres u kohorti blizanaca muškog pola [109]. Nosioci N363S su imali jači odgovor kortizola na psihosocijalni test, kao i nakon stimulacije sa ACTH; nasuprot tome, homozigotni nosioci *BclI* polimorfizma su imali niži odgovor kortizola u poređenju sa kontrolom. Interesantno, efekat navedenih polimorfizama je kod žena potpuno suprotan: žene nosioci polimorfizma N363S su imale gotovo suprimovan odgovor kortizola, dok su homozigoti za G/G *BclI* polimorfizam imale najviše vrednosti kortizola [110].

Određene diskrepance u nalazima mogu se objasniti činjenicom da u studije uglavnom sprovedene na ograničenom broju ispitanika različitih etničkih pripadnosti. Takođe, može se očekivati da će izmenjeni GR različito funkcionisati u različitom genskom miljeu, karakterisanom različitim panelima gena sa različitim efektima na sposobnost GR da obavi svoju funkciju [99].

Kada je u pitanju fizičko vežbanje, nishodna ekspresija GR je pokazana kod hroničnog treninga izdržljivosti kod pacova, i to na nivou jetre, a nakon akutnog vežbanja na nivou srca i bubrega [111]. Promena je bila proporcionalna intenzitetu i opterećenju vežbanja, pri čemu su sve promene bile reverzibilne. Sličan efekat je potvrđen i kod ljudi na nivou GR eksprimiranih na perifernim leukocitima [112]. Nivo

sníženja ekspresije GR na perifernim leukocitima je bio proporcionalan prethodnom intenzitetu vežbanja [113].

6.2. MINERALOKORTIKOIDNI RECEPTOR

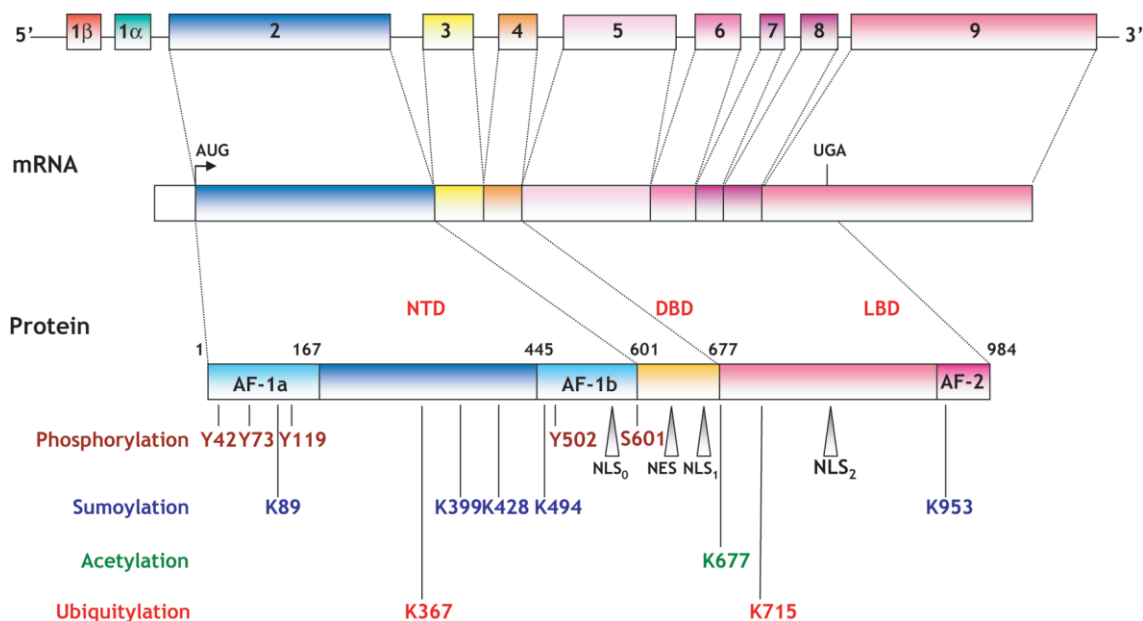
Mineralokortikoidni receptor funkcioniše kao komplementarni receptor glukokortikoidnom u zajedničkoj regulaciji funkcije HHN osovine. Za razliku od ubikvitarno eksprimiranog GR (i kada je u pitanju mozak), MR je dominantno eksprimiran u limbičkim regijama, kao što su hipokampus ili amigdala [114]. U hipokampusu, MR su kolokalizovani sa GR. S obzirom na visok afinitet MR za GC, zauzetost ovih receptora ligandom je visoka i u bazalnim (nestimulisanim, nestresnim) okolnostima [115]. Zbog toga se dugo smatralo da MR tokom stresnog odgovora dominantno služi da pojača funkcionalnost GR za vezivanje GC, a da nema nezavisnu ulogu. Međutim, poslednja saznanja ukazuju da MR ispoljava brze efekte na neurotransmisiju i sinaptičku plastičnost hipokampusa i amigdala u situaciji stresnih okolnosti, i to brzim negenomskim efektima kortizola putem MR koji su locirani na plazma membrani [116]. Dodatno, nedavno je potvrđeno da tokom akutnog stresa dolazi do konkomitantnog vezivanja MR i GR za iste GRE, pri čemu se oba receptora vezuju kao homo- ili heterodimeri [117]. Ovo je postavilo MR na važno mesto u analizi moderatora stresnog odgovora.

Pored centralnog nervnog sistema, MR je eksprimiran u mnogim tkivima kao što su bubrezi, debelo crevo, srce, smeđe masno tkivo i znojne žlezde. U epitelijalnim tkivima njegova aktivacija dovodi do ekspresije proteina koji regulišu transport vode i jona (dominantno epitelijalni natrijumski kanal ili ENaC, Na/K pumpa, serumska i glukokortikoidima indukovana kinaza SGK1), dovodeći do reapsorpcije natrijuma i posledičnog povećanja ekstraćelijskog volumena i povećanja krvnog pritiska, a sa druge strane do povećanja ekskrecije kalijuma kako bi se održala normalna koncentracija soli u organizmu [118]. Ovi efekti su dominantno posredovani aldosteronom, naročito na nivou bubrega, gde se aldosteron sa visokim afinitetom vezuje za MR usled visoke aktivnosti 11 β -HSD2 na nivou bubrega, a koja katabolizuje kortizol u inaktivni metabolit kortizon. Nasuprot bubrega, u mozgu je visoko eksprimirana 11 β -HSD1 koja obezbeđuje visoku koncentraciju aktivnog kortizola iz inaktivnih 11-keto derivata.

Takođe, zbog odsustva kortizol konvertujućeg enzima aldosteron sintaze, u mozgu su niske koncentracije aldosterona [119]. Zbog toga je kortizol glavni ligand za MR eksprimirane u mozgu.

Ekstenzivna ekspresija MR je pokazana u masnom tkivu, gde ima ulogu u njegovom razvoju i metabolizmu, kao i u produkciji proinflamatornih medijatora [120]. U srcu, ekspresija MR na makrofagima predstavlja važan faktor koji doprinosi inflamaciji nakon infarkta miokarda [121]. Ima dokaza da neuronalna ekspresija MR ima anti-apoptotsku i regulatornu ulogu smanjujući smrt neuronalnih ćelija nakon globalne cerebralne ishemije [122]. Sa starenjem ekspresija MR u CNS se smanjuje, što rezultira gubitkom HHN-inhibicije, i hroničnim porastom nivoa kortizola [123].

Mineralokortikoidni receptor je kodiran od strane *NR3C2* gena lociranog na hromozomu 4q31.1. i sastoji se od 10 egzona koji se prostiru u rasponu od otprilike 450 kB (slika 8).

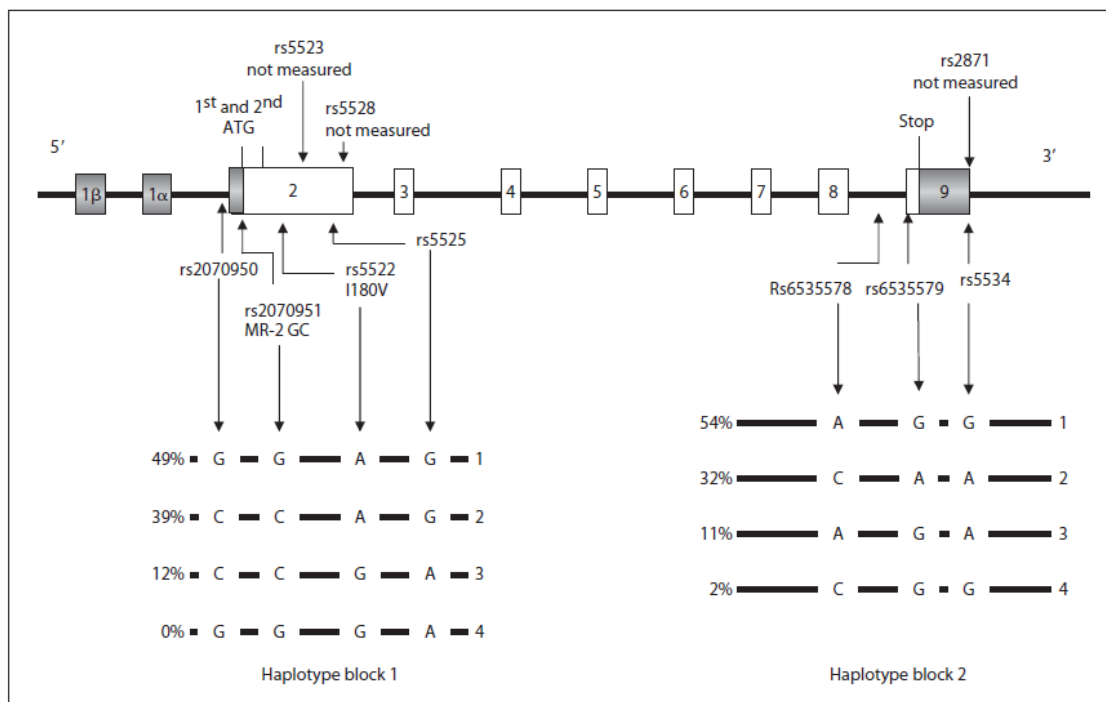


Slika 8: Gen MR, iRNK i protein, sa prikazom funkcionalnih domena i pridruženih posttranslacionih modifikacija [124] – objašnjenje u tekstu

Gen se sastoji od 10 egzona, uključujući i prva dva koji su netranslacioni (1 α i 1 β). Translaciono startni kodon je lociran 2 bazna para (bp) počev od 2. egzona, dok je stop kodon lociran na 9. egzonu [124]. Multiple izoforme iRNK generisane alternativnom transkripcijom ili različitim sečenjem se prevode (transliraju) u različite

proteinske varijante. Receptor se sastoji od različitih funkcionalnih domena (*activatin function* AF-1a, AF-1b i AF-2) i nuklearnih lokalizacionih signala (NLS0, NLS1 i NLS2), kao i jednog nuklearnog signala za eksportaciju (NES). Na slici 8 su prikazane i pozicije aminokiselina koje su mete za fosforilaciju, sumoilaciju i ubikvitinaciju.

Slično kao i kod GR, sekvenciranjem egzona gena za MR identifikovno je nekoliko polimorfizama (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) [125].



Slika 9: Važni SNP u genu za MR i odgovarajući haplotipovi [126] – objašnjenje u tekstu

Analiza haplotipova je pokazala da postoje dva bloka: jedan u 5' regionu a drugi u 3' regionu [126]. Haplotipovi i njihov uticaj na senzitivnost MR na ligand praktično zavise od dva prominentna SNP: MR-I180V (rs5522) i MR-2G/C (rs2070951). Visokofrekventni MR-I180V (frekvencija minornog alela (G) je 12%) je lociran na 2.egzonu i menja primarnu strukturu MR proteina. Ovaj SNP dovodi do aminokiselinske zamene izoleucina u valin u N-terminalnom domenu proteina, i utiče na transaktivacioni potencijal MR *in vitro* [127]. Drugi SNP koji je testiran je MR-2G/C (frekvencija minornog alela je 50%) i lociran je dva nukleotida pre prvog translacionog startnog mesta na MR. C-alel ovog SNP verovatno dovodi do veće ekspresije MR proteina, povećane transaktivacije i aktivnosti u porećenju sa G-alelom [128].

Ova dva uobičajena SNP se pojavljuju kao deo bloka 1 haplotipova, a u prirodi se javljaju kao 3 uobičajena haplotipa (četvrti praktično nije dokazan). Ovi haplotipovi takođe utiču na funkcionalnost MR i često se koriste u klinički studijama. Do sada je pokazano u *in vitro* uslovima da GA haplotip (haplotip 1) pokazuje značajno nižu maksimalnu transaktivaciju i nižu ekspresiju proteina u poređenju sa CA i CG haplotipovima (haplotip 2 i haplotip 3) [129]. Najviša aktivnost je demonstrirana kod haplotipa 2, nešto viša od haplotipa 3.

Ovi nalazi su ukazali na mogućnost da ovi SNP i haplotipovi mogu imati i *in vivo* posledice. Pokazano je da nosioci G-alela MR-2C/G SNP imaju povišen odgovor kortizola pri buđenju [130]. Nosioci C-alela (CA i CG haplotip) imaju veću ekspresiju MR i samim tim povećanu toničku inhibiciju koja rezultira u nižim baznim vrednostima kortizola. Međutim, ovaj rezultat nije konzistentno potvrđen, tj. u kohorti od 218 zdravih dobrovoljaca nije utvrđen efekat ovih polimorfizama na odgovor kortizola pri buđenju [125].

Kada je u pitanju odgovor na psihosocijalni stress, pokazano je da nosioci CA haplotipa imaju pojačan stresni odgovor, na osnovu skoka vrednosti ACTH i plazma i salivarnog kortizola [131]. Nasuprot tome, nosioci GA haplotipa su imali oslabljen stresni odgovor. Međutim, i u ovom slučaju ima nekonzistentnih nalaza, pa tako nije potvrđen značajan uticaj polimorfizama u MR-I180V SNP na stresni odgovor kod 64 zdrave osobe [132].

6.3. ADRENOKORTIKOTROPNI RECEPTOR

Svi melanokortinski peptide – petptidi nastali iz proopiomelanokortina (POMC) kao što su ACTH, α -MSH, β -MSH, γ -MSH, δ -MSH, selektivno se vezuju za porodicu G-protein kuplovnih receptora, a koji se nazivaju melanokortinski receptori [133]. Melanokortinski receptori (MCR) posreduju u endokrinim, neuronalnim i parakrinim efektima, razlikuju se prema specifičnosti za određeni melanokortinski peptid, kao i specifičnosti prema antagonistima i lekovima [134]. Postoji 5 poznatih tipova MCR: 1) MC1R: udružen sa pigmentacijom, 2) MC2R: poznat i kao ACTH receptor, s obzirom da je specifičan samo za ACTH; 3) MC3R; 4) MC4R: defekti u ovom receptori dovodi do autozomno-dominantne gojaznosti, odgovorne za oko 6% svih slučajeva rano nastale

gojaznosti; 5) MC5R (Tabela 1). Svi navedeni receptori neselektivno vezuju antagoniste *agouti-related peptide* (AgRP) i *agouti signaling peptide* (ASIP).

Tabela 1: Ključne odlike melanokortinskih receptora

Receptor	Osnovno mesto ekspresije	Preferenca liganda	Fiziološka uloga
MC1R	Melanociti, melanoma	α -MSH>ACTH	pigmentacija kože
MC2R	adrenalni korteks	ACTH	adrenalna steroidogeneza
MC3R	mozak, placenta, GIT, makrofagi	γ -MSH> α -MSH	metabolizam i telesna masa
MC4R	mozak, kičmena moždina	α -MSH>ACTH	regulacija apetita
MC5R	široko rasprostranjeni	α -MSH>ACTH	egzokrina sekrecija?

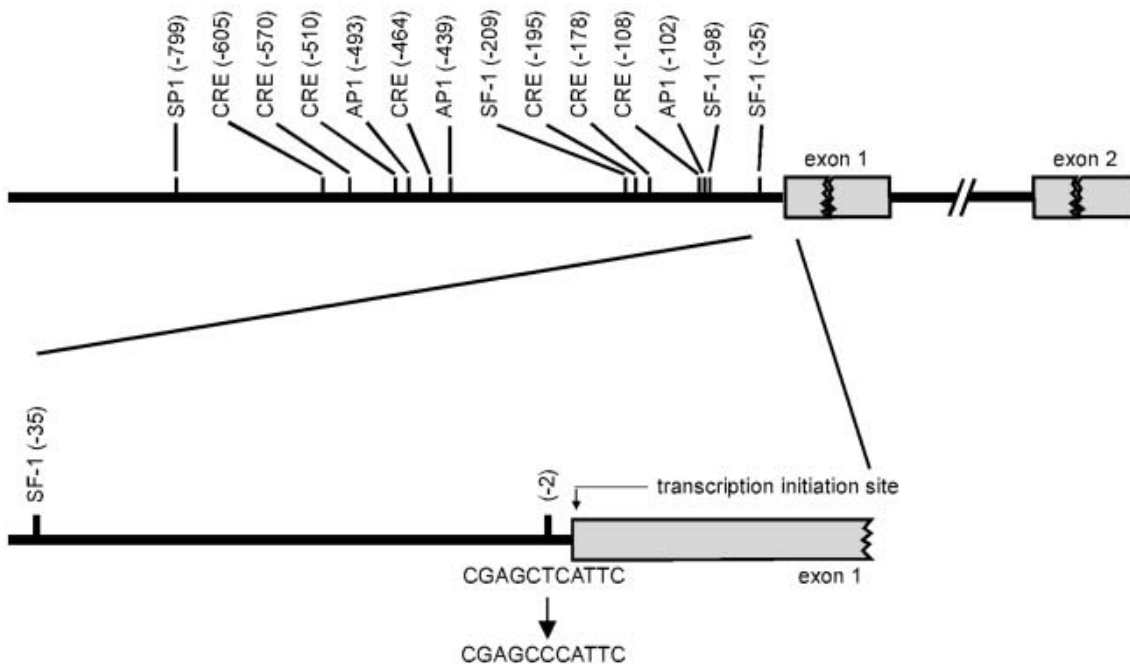
ACTH-adrenokortikotropni hormone, GIT-gastrointestinalni trakt, MC-melanokortin, MSH-melanocit-stimulišući hormone, R-receptor

Adrenokortikotropni receptor MC2R ima ključnu ulogu u funkcionisanju HHN osovine. Adrenokortikotropin (ACTH) oslobođen iz kortikotropnih ćelija prednjeg režnja hipofize vezuje se za MC2R na ćelijama kore nadbubrežnih žlezda kao njegov jedini prirodni agonista. Aktivacija MC2R signalizira ćelijama zone fasciculate adrenalne kore da sintetišu i sekretuju GC. Pored ove, osnovne funkcije, vezivanjem za MC2R ACTH stimuliše i produkciju androgena iz zone retikularis, a ovo se postiže povećanjem preuzimanja holesterola u mitohondrije, i pojačanjem ekspresije steroidogenih enzima [135]. Uloga ACTH u stimulaciji adrenalnog rasta je bila jedna od oblasti kontroverze; hipofizektomija je udružena sa atrofijom adrenalne kore, dok su stanja ACTH ekscesa (kao što je Kušingova bolest) udružena sa adrenalnom hiperplazijom. Kasnije studije su potvrdile neophodnost delovanja kosekretovanog mitogena, po svemu sudeći nastalog iz N-terminalnog dela POMC prekursora [136].

Humani MC2R gene je lociran na hromozomu 18p11.2 i sastoji se od dva egzona, od kojih egzon 1 ne podleže translaciji. Tokom poslednjih nekoliko godina identifikovano je nekoliko polimorfizama u promotorskim regionima MC2R gena, ali je njihov fiziološki značaj još uvek nejasno definisan. Neki od ovih polimorfizama (-184A, rs2186944) imaju protektivno dejstvo protiv heroinske zavisnosti [137]. Četiri druga polimorfizma (rs1893219, rs1893220, rs2186944 i -2T>C) su se pokazala značajnim za procenu terapijskog odgovora na ACTH u lečenju pojedinih formi encefalopatije i infantilnih spazama [138]. Primena ACTH inhibira produkciju i

oslobađanje CRH, koji tokom ranog perioda života dovodi do smrti neurona vezanih za učenje i memoriju [139]. TCCT haplotip rezultira u povećanoj ekspresiji MC2R i pojačanom odgovoru na ACTH.

Jedan od najbolje ispitanih je polimorfizam na promotorskom mestu inicijacije transkripcije, na poziciji -2bp, a koji menja konsenzus sekvencu iz C GAG CTC ATT C u C GAG CCC ATT C (CTC→CCC, ili -2T>C) (slika 10) [140]. Ovaj SNP je udružen



Slika 10: Gen ACTH receptora (MC2R) sa označenim mestom inicijacije transkripcije i lokalizacijom polimorfizma CTC u CCC [140]

sa sniženjem promotorske aktivnosti *in vitro* i sa sniženjem sekrecije kortizola nakon produžene stimulacije od strane ACTH *in vivo*. Odnos ACTH/kortizol nakon stimulacije sa ACTH je bio niži kod homozigotnih nosilaca CCC/CCC. Isti SNP je takođe udružen sa višim nivoom dehidroepiandrosterona (DHEA), androstenediona i plazma ACTH kod dece sa prevremenom adrenarhom [141]. U istoj studiji, bazni odnos ACTH/kortizol je u kontrolnoj grupi bio značajno viši kod osoba sa polimorfizmom, što ukazuje na smanjenu osetljivost na ACTH. Slično, homozigotni nosioci ovog polimorfizma imali su značajno niži skok DHEA u odnosu na homozigote sa normalnim alelom nakon šestočasovne stimulacije sa ACTH, dok se bazne koncentracije DHEA nisu razlikovale među grupama [142].

II CILJEVI RADA

1. Ispitati diferencijalni odgovor hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na akutni fizički stres u zavisnosti od utreniranosti
2. Ispitati prisustvo faznog pomeranja normalnog cirkadijalnog ritma sekrecije kortizola i ACTH kod profesionalnih sportista.
3. Ispitati diferencijalni odgovor hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na akutni fizički stres u zavisnosti od postojanja polimorfizama u genima za GR, MR i ACTH receptor.
4. Ispitati razliku između profesionalnih sportista i sedentarnih ispitanika u osetljivosti hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na negativnu povratnu spregu

III METODOLOGIJA

Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Kolegijuma Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma i Kolegijuma Klinike za kardiologiju Kliničkog centra Srbije. Sprovedena je u Kliničkom centru Srbije, u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma i Klinici za kardiologiju. Svi ispitanici su dali pismeni pristanak za učestvovanje u studiji. Sve procedure su sprovedene u skladu sa etičkim preporukama sadržanim u Helsinškoj deklaraciji. Zbog primene 1 mg deksametazona u okviru studijskog protokola, dobijena je pismena saglasnost Antidoping agencije Republike Srbije (ADAS) i testiranje je obavljeno uz praćenje ove agencije.

1. ISPITANICI

U okviru studije su ispitane tri grupe profesionalnih sportista muškog pola (ukupno 55 sportista): 1) 21 vaterpolista, 2) 15 rvača, i 3) 19 odbojkaša. Svi sportisti su se takmičili u najvišem nacionalnom rangu, trenirali su najmanje 15 sati nedeljno i ispitivani su u periodu intenzivnih treninga (tokom priprema za takmičenje). Sve 3 podgrupe su imale kombinovani protokol treniranja koji uključuje i dinamičko i statičko opterećenje, i prema klasifikaciji sportova, a prema stepenu zastupljenosti dinamičke i statičke komponente, okarakterisani su kao D3S2 (vaterpolisti), D2S3 (rvači) i D2S1 (odbojkaši) [143].

Kao kontrolne grupe su ispitani sedentarni ispitanici upareni prema godinama: 1) 20 osoba muškog pola koji nisu bili izloženi vidljivom stresu – KN (uobičajene, redovne životne okolnosti, bez lične percepcije značajnog stresa), 2) 18 osoba muškog pola aktuelno izloženih psihičkom stresu (studenti medicine tokom ispitnog roka) - KS. Svi kontrolni ispitanici su se sportom bavili maksimalno na rekreativnom nivou.

Svi ispitanici su bili zdravi, nepušači i normotenzivni. Kriterijumi isključenja za sve ispitanike su bili postojanje aktivne ili hronične bolesti, upotreba lekova uključujući i kortikosteroide i bilo koje preparate za pojačavanje snage, izdržljivosti ili mišićne mase, postojanje porodične anamneze za naprasnu srčanu smrt.

2. STUDIJSKI PROTOKOL

Ispitivanja iz studijskog protokola su organizovana tokom 3 odvojena dana:

- 1) prvog dana je u jutarnjim časovima (8:00-9:00h) vađena krv za određivanje baznih vrednosti kortizola i ACTH. Istovremeno je uziman i jedan uzorak krvi za genetičku analizu polimorfizama gena za GR (*BcII*, ER22/23EK, N3633S i A3669G), polimorfizama gena za MR (-2G/C i I180V) i polimorfizma promotorskog regiona gena za MC2R. Krv za analize je uzimana našte, svim ispitanicima je savetovano da ne jedu ništa posle 20h prethodnog dana i da u tom periodu nemaju fizičku aktivnost (uključujući i trening sportista). Ispitanicima je uzimana standardna klinička medicinska anamneza uz obavljanje internističkog pregleda. U ovom delu studijskog protokola su učestvovali odbojkaši i kontrole izložene psihičkom stresu;
- 2) drugog dana je rađen ergospirometrijski test sa uzimanjem uzoraka krvi za analizu nivoa kortizola i ACTH. U ovom delu studijskog protokola su učestvovali svi ispitanici;
- 3) trećeg dana je u jutarnjim časovima (8:00-9:00h) vađena krv za određivanje kortizola nakon što su ispitanici prethodno večer u periodu 23:00-24:00h uzimali 1 mg deksametazona peroralno (Dexason tbl.). U ovom delu studijskog protokola su učestvovali odbojkaši i kontrole izložene psihičkom stresu.

2.1. ERGOSPIROMETRIJA

Svim ispitanicima je sprovedeno ergospirometrijsko testiranje (aparat Ergospirometry Schiller CX200) progresivnim kontinuiranim testom maksimalnog opterećenja na pokretnoj traci korišćenjem metoda udah-po-udah, radi procene maksimalne potrošnje kiseonika (VO_2 max) kao mere funkcionalnog kapaciteta. Protokol uključuje 3 minuta mirovanja, 2 minuta pri brzini od 6km/h i nagibu trake od 2%, 2 minuta pri brzini od 9km/h i nagibu trake od 2%, a zatim uz porast nagiba od 2% na svakih 2 minuta dok se ne dostignu kriterijumi za maksimalni test, nakon čega sledi 3 minuta oporavka. Test je smatran maksimalnim ako je zadovoljeno bar dva od sledeća tri kriterijuma: 1) dostignut je plato u potrošnji kiseonika (porast potrošnje kiseonika manji od 1.5ml/kg/min), 2) RER (*respiratory exchange ratio*) je dostigao vrednost od 1.1, 3) dostignuta vrednost srčane frekvence je veća od 95% od maksimalne predviđene

na osnovu godina (220-starost u godinama). Protokol je određen pretestiranjem 9 ispitanika kako bi se optimizovalo trajanje testa (8-12 min), a u skladu sa važećim preporukama [144]. Testiranje je obavljano u istom periodu dana (12:00-15:00 h), s obzirom da su u tom periodu najmanje cirkadijalne varijacije hormona HHN osobine, kao i zbog toga što je to vreme blisko odgovaralo uobičajenom periodu treninga sportista.

Ispitanicima su praćeni: srčana frekvenca (f , min^{-1}), arterijski krvni pritisak (TA, mmHg), frekvenca disanja (BF, min^{-1}), potrošnja kiseonika (VO_2 , ml/min), oslobađanje ugljen-dioksida (VCO_2 , ml/min) i respiratorni količnik (RER). Svim ispitanicima je plasiran venski put u kubitalnu venu (braunila) i u 4 različita vremenska trenutka uzimani su uzorci krvi za hormonske analize: 1) u mirovanju (M), 2) neposredno pred početak testa (P), u trenutku kada je ispitanik pozicioniran na traku, 3) na kraju testa, tj. u trenutku maksimalnog opterećenja (MAX), 4) u 3. minutu opravka (O). Tokom svakog vađenja krvi izvađeno je 10 ml krvi.

2.2. HORMONSKE ANALIZE

Svi uzorci krvi su centrifugirani, nakon čega je izdvojen serum i zamrznut na -80°C do analize. Sve hormonske analize su rađene u duplikatu.

Kortizol je određivan radioimunoesejem (CORT-CT2, CIS BioInternational, Gif-Sur-Yvette Cedex, Francuska) sa donjom granicom osetljivosti eseja 4.6nmol/l . Serumska koncentracija ACTH je određivana imunoradiometrijskom metodom (ELSA-ACTH, CIS BioInternational, Gif-Sur-Yvette Cedex, Francuska) sa donjom granicom osetljivosti eseja 2 ng/l .

2.3 GENETIČKA ANALIZA

Dezoksiribonukleinska kiselina (DNK) je izolovana iz limfocita, a potom umnožavana pomoću lančane polimerazne reakcije (*polymerase chain reaction*-PCR).

Karakterizacija intronskog *BclII* polimorfizma (rs41423247) rađena je korišćenjem PCR sa analizom polimorfizma dužine restrikcionog fragmenta (*restriction*

fragment length polymorphism-RFLP). Za analizu je korišćen *BclI* restrikcioni enzim (Fermentas UAB; Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania). Kraći restrikcioni fragment koji predstavlja normalnu varijantu alela je obeležen sa G, a duži restrikcioni fragment koji označava polimorfizam je obeležen sa C. Normalna varijanta *BclI* restrikcionog fragmenta odnosno nepostojanje *BclI* polimorfizma (*wild type*) je predstavljeno genotipom GG, heterozigotnost genotipom GC a homozigotnost kao CC.

Analiza ER22/23EK polimorfizma u egzonu 2 (rs6189 i rs6190) je sprovedena istom metodom, s tim što korišćen *MnII* restrikcioni enzim (Fermentas UAB; Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania). Normalna varijanta alela je označena sa G, a polimorfizam sa A. Normalan genotip (*wild type*) je prikazan genotipom GG, heterozigotnost za ER22/23EK polimorfizam kao GA, a homozigotnost kao AA.

Koristili smo alel-specifični PCR za detekciju N363S (rs6195) polimorfizma u drugom egzonu gena za GR. Produkti ove reakcije su bili kontrolni fragment od 306 bp u svakoj cevčici u kojoj je bio prisutan alel koji odgovara specifičnom prajmeru (363M ili 363W). Normalna varijanta alela je obeležena sa A, a fragment koji označava polimorfizam je obeležen sa G. Nepostojanje N363S polimorfizma (*wild type*) je označeno genotipom AA, heterozigotnost za N363S polimorfizam genotipom AG, a homozigotnost kao GG.

Nukleotidni polimorfizam A3669G (rs6198) lociran na 3' kraju egzona 9 β GR je karakterisan sekvenciranjem nakon PCR umnožavanja korišćenjem sekvenatora *ABI PRISM*[®] 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, SAD). Normalna varijanta alela je obeležena sa A, a fragment koji označava polimorfizam je obeležen sa G. Nepostojanje A3669G polimorfizma (*wild type*) je označeno genotipom AA, heterozigotnost za A3669G polimorfizam genotipom AG, a homozigotnost kao GG.

Za detekciju prisustva polimorfizma unutar mesta inicijacije transkripcije ACTH-receptorskog promotora (CTC \rightarrow CCC), koristili smo PCR sa RFLP. PCR produkti su digestirani sa *SacI* restrikcionim enzimom (Fermentas UAB; Thermo Fisher Scientific). Normalna varijanta alela je obeležena sa T, a fragment koji označava polimorfizam je obeležen sa C. Nepostojanje ACTHR polimorfizma (*wild type*) je označeno genotipom TT, heterozigotnost genotipom TC, a homozigotnost kao CC. Rezultati koji su dobijeni putem RFLP ili alel-specifičnog PCR-a za sve polimorfizme gena za GR i ACTHR, potvrđeni su sekvenciranjem na *ABI PRISM*[®] 3130 Genetic Analyzer aparatu.

Kada je u pitanju gen za MR (*NR3C2*), analizirana su dva polimorfizma: -2G/C (rs2070951) i I180V (rs5522). Karakterizacija oba ova polimorfizma je sprovedena sekvenciranjem umnoženih DNK fragmenata metodom automatskog sekvenciranja ("metoda terminacije sinteze lanca", "dideoksi metoda"). U slučaju polimorfizma -2G/C, normalna varijanta alela je obeležena sa G, a polimorfizam je označen sa C. Nepostojanje -2G/C polimorfizma (*wild type*) je označeno genotipom GG, heterozigotnost genotipom GC, a homozigotnost genotipom CC. U slučaju polimorfizma I180, normalna varijanta alela je označena sa A, a polimorfizam sa G. Nepostojanje I180V polimorfizma (*wild type*) je označeno genotipom AA, heterozigotnost genotipom AG, a homozigotnost genotipom GG.

3. STATISTIČKA ANALIZA

Statistička obrada podataka je rađena pomoću softvera SPSS (SPSS for Windows, 21.0). Vrednost statističkih analiza od $p < 0.05$ je smatrana značajnom, a $p < 0.01$ visoko značajnom.

Kontinuirane varijable koje su imale normalnu raspodelu su prikazivane kao aritmetička sredina (SD-standardna devijacija) a ukoliko su predstavljale jednokratno merene parametre analizirane su parametrijskim testovima: Studentov T-test i jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA). Kontinuirane varijable koje nisu imale normalnu raspodelu su predstavljane kao medijana (IQR-interkvartilni raspon) i analizirane su neparametarskim testovima: Mann-Whitney test i Kruskal-Wallis test. Za analizu promene vrednosti hormona tokom opterećenja korišćena je jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) sa ponavljanim merenjima. Varijable koje nisu bile normalno raspoređene, inicijalno su logaritamski transformisane radi postizanja normalnosti. Unutar-grupne razlike su analizirane univarijantnim testovima, uz korišćenje Greenhouse-Geiser korekcije ukoliko nije bio zadovoljen kriterijum sferičnosti (Mauchly W, $p > 0.05$).

Kategoričke varijable su analizirane primenom χ^2 -testa ukoliko su bili zadovoljeni kriterijumi (makar jedna očekivana vrednost je 1 i više od 20% očekivanih vrednosti je manje od 5), odnosno Fisherov-og testa tačne verovatnoće ako nisu bili zadovoljeni navedeni kriterijumi.

Za analizu korelacija između varijabli sa normalnom raspodelom korišćen je Pearson-ov koeficijent korelacije (r), a za varijable bez normalne raspodele Spearman-ov koeficijent korelacije (ρ).

Za utvrđivanje značajnih prediktora kontinuiranih varijabli korišćena je univarijantna linearna regresiona analiza. Analiza je sprovedena korišćenjem pojedinačnog forsiranog unosa (*Enter*).

IV REZULTATI

Analizirano je 55 sportista (21 vaterpolista, 15 rvača, 19 odbojkaša) uparenih prema starosti sa 38 sedentarnih osoba muškog pola (20 kontrola neizloženih stresu i 18 kontrola izloženih psihičkom stresu) (Tabela 1).

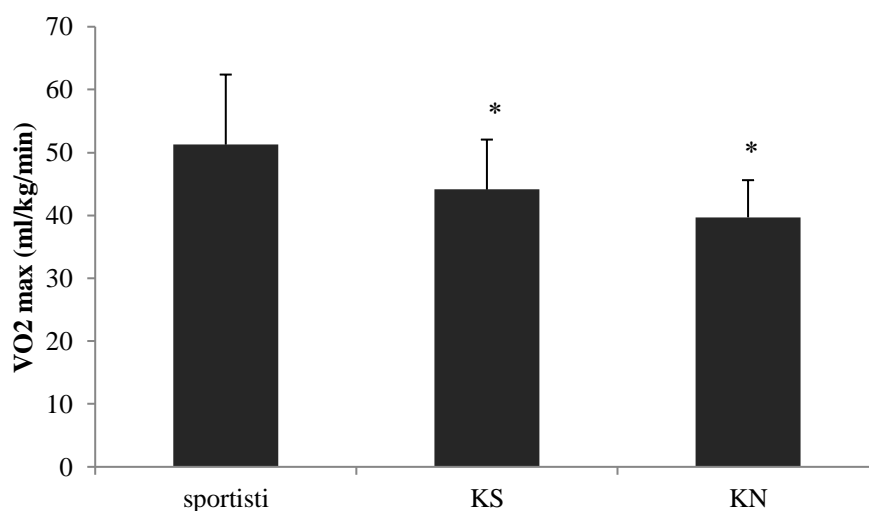
Tabela 1. Opšte karakteristike muških ispitanika

	Vaterpolisti	Rvači	Odbojkaši	KN	KS	p
Starost (godine)	21.0 (6)	23.0 (2)	22.5 (5)	21.0 (3)	23.0 (1)	0.758

rezultati su prikazani kao medijana (IQR); KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu

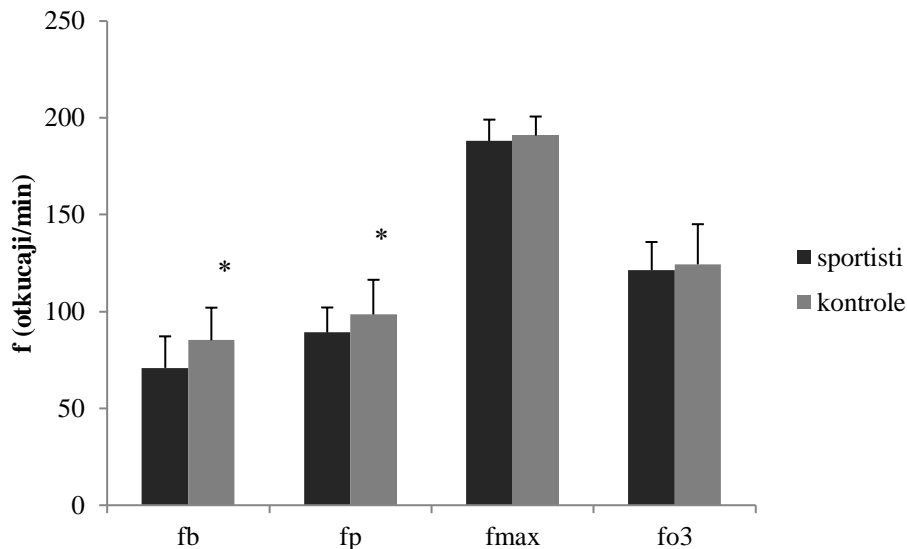
1. AKUTNO FIZIČKO OPTEREĆENJE – ERGOSPIROMETRIJSKI TEST

Ispitanici su se očekivano razlikovali u parametrima utreniranosti. Sportisti su imali značajno veću maksimalnu potrošnju kiseonika pri naporu u odnosu na obe grupe kontrolnih ispitanika ($p < 0.001$ u odnosu na KN i $p = 0.012$ u odnosu na KS), dok se kontrolne grupe međusobno nisu razlikovale ($p = 0.089$) (grafik 1).



Grafik 1. Razlike u maksimalnoj potrošnji kiseonika (VO_2max) između sportista i kontrola. KS, kontrole izložene psihičkom stresu; KN, kontrole neizložene stresu; *, statistički značajna razlika u odnosu na sportiste

Sportisti su imali značajno nižu srčanu frekvencu u mirovanju i na početku testa u poređenju sa kontrolama (u mirovanju $p < 0.001$, na početku testa $p = 0.007$). Tokom testa i praćenog perioda oporavka, izgubile su se sve razlike u srčanim frekvencama ($p > 0.05$ za sva merenja) (grafik 2).



Grafik 2: Razlike u vrednostima srčane frekvence tokom testa. fb, bazna frekvencija; fp, frekvencija na početku testa; fmax, frekvencija pri maksimalnom opterećenju; fo3, frekvencija u 3. minutu oporavka; *, statistički značajna razlika u odnosu na sportiste

1.1. ODGOVOR KORTIZOLA TOKOM ERGOSPIROMETRIJSKOG TESTA

Tabela 2 prikazuje pojedinačne vrednosti kortizola tokom testa kod sportista.

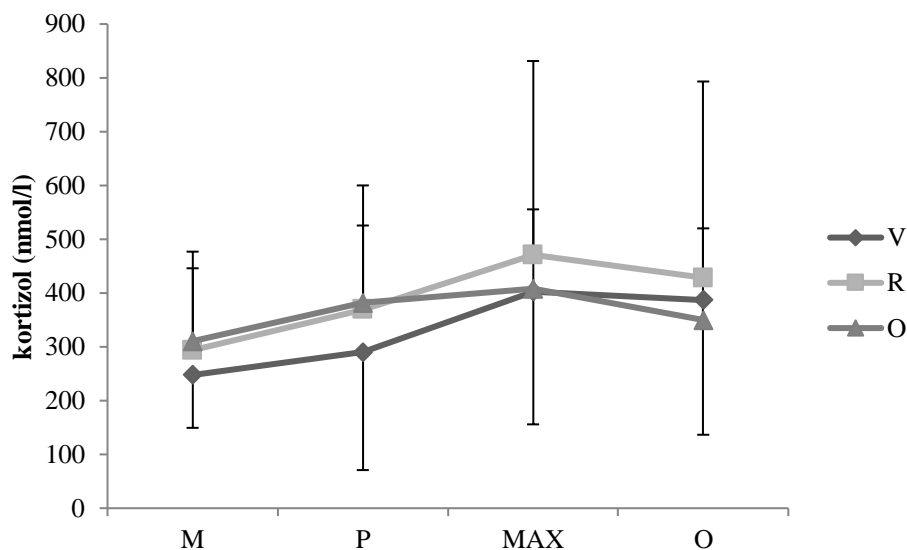
Tabela 2: Razlike u pojedinačnim vrednostima kortizola tokom testa kod sportista

		V	R	O	p
kortizol (nmol/l)	m	247.6 (98.3)	293.8 (183.1)	310.5 (135.5)	0.042
kortizol (nmol/l)	p	290.1 (219.3)	369.5 (230.5)	381.5 (144.0)	0.309
kortizol (nmol/l)	max	402.4 (246.6)	470.9 (360.4)	408.0 (147.5)	0.558
kortizol (nmol/l)	o	387.2 (250.7)	428.0 (365.2)	349.6 (170.6)	0.347

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

Sportisti iz sve tri grupe se međusobno nisu razlikovali u pojedinačnim vrednostima kortizola osim kada su u pitanju vrednosti u mirovanju, i to na račun razlike koja je postojala između vaterpolista i rvača ($p=0.018$) i vaterpolista i odbojkaša ($p=0.029$), dok se rvači i odbojkaši međusobno nisu razlikovali ($p=0.856$).

Svi sportisti su imali značajan odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa (vreme $F_{1,597}=26.89$, $p<0.001$), ali se grupe međusobno nisu razlikovale u načinu odgovora (vremexgrupa $F_{3,194}=1.967$, $p=0.124$) (grafik 3).



Grafik 3: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista različitih disciplina. V, vaterpolisti; R, rvači; O, odbojkaši; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

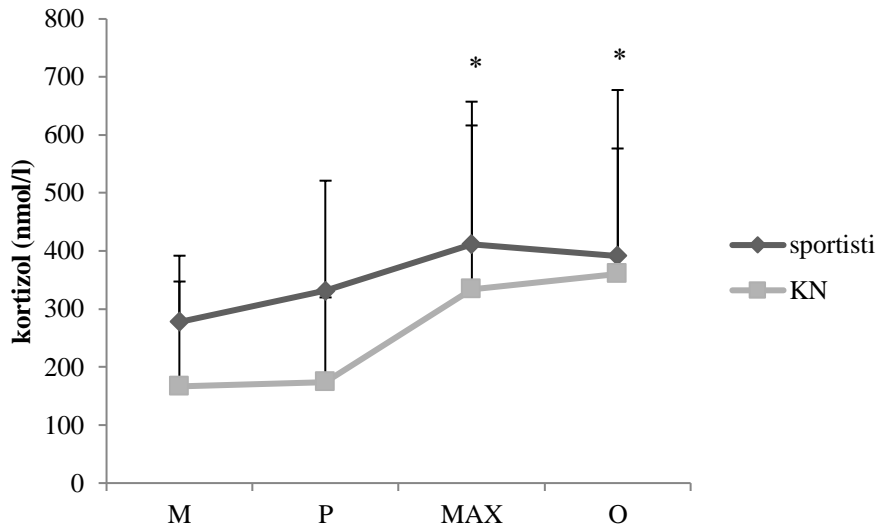
Sportisti su u odnosu na kontrole neizložene stresu imali značajno više vrednosti kortizola tokom svih tačaka testa, izuzev u 3. minutu oporavka (tabela 3).

Tabela 3: Razlike u pojedinačnim vrednostima kortizola između sportista i kontrole neizložene stresu

	S	KN	p
kortizol m (nmol/l)	277.7 (114.2)	166.7 (180.7)	0.001
kortizol p (nmol/l)	331.6 (189.6)	174.2 (145.8)	<0.001
kortizol max (nmol/l)	411.5 (245.9)	334.2 (282.2)	0.038
kortizol o (nmol/l)	391.5 (286.0)	360.4 (216.3)	0.150

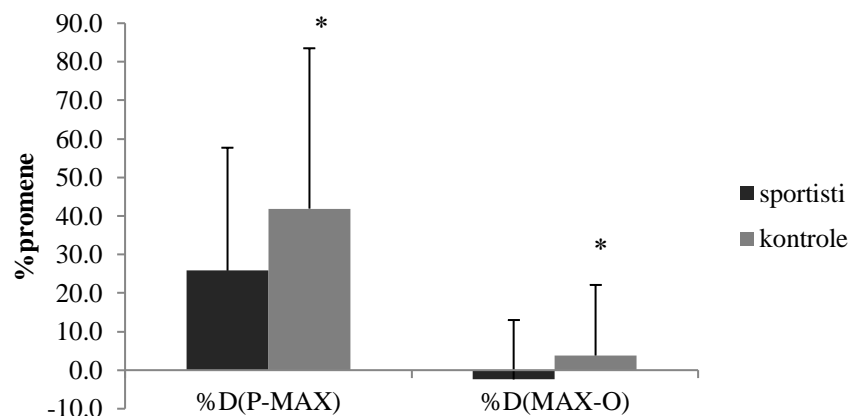
vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); S, sportisti; KN kontrole neizložene stresu; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

Pored značajnog porasta u vremenu ($F_{1,599}=71.87$, $p<0.001$), grupe su se razlikovale u obrascu odgovora (vremexgrupa $F_{1,599}=5.41$, $p=0.010$). Razlika je postojala između P i MAX ($F_1=7.213$, $p=0.010$), kada je naglašeniji odgovor registrovan kod kontrola, i između MAX i O ($F_1=7.91$, $p=0.007$), kada su vrednosti kortizola polako počele da padaju kod sportista, dok su još uvek rasle kod kontrola (grafik 4).



Grafik 4: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista i kontrola neizloženih stresu. KN, kontrole neizložene stresu; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika između sportista i kontrola

Isto je u skladu sa registrovanim značajnim razlikama u procentima promene nivoa kortizola između P i MAX ($p=0.010$) i MAX i O ($p=0.015$) (grafik 5).



Grafik 5: Razlike u procentima promene kortizola tokom testa između sportista i kontrola neizloženih stresu. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika u odnosu na sportiste

Kod sportista je pored neuroendokrine registrovana i metabolička adaptacija, s obzirom da je u ovoj grupi potrošnja kiseonika u odnosu na KN bila značajno veća u svim tačkama testa osim tokom anticipacije, a nevezano za razliku pri maksimalnom opterećenju koja je konkretno posledica razlike u utreniranosti (tabela 4).

Tabela 4: Razlike u pojedinačnim vrednostima potrošnje kiseonika između sportista i kontrola neizoloženih stresu

	S	KN	p
VO₂ m (ml/min/kg)	4.8 (1.9)	3.3 (1.2)	0.002
VO₂ p (ml/min/kg)	5.2 (1.7)	5.0 (1.9)	0.740
VO₂ max (ml/min/kg)	49.7 (7.4)	39.2 (4.2)	<0.001
VO₂ o (ml/min/kg)	10.2 (2.7)	8.5 (2.6)	0.018

vrednosti su prikazane kao srednja vrednost (SD); KS, kontrole neizoložene stresu; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

Kada su u pitanju parametri utreniranosti, nivoi kortizola u svim tačkama testa su značajno korelisali samo sa srčanom frekvencom na početku testa (tabela 5), koja je bila i prediktor vrednosti kortizola u različitim tačkama testa (tabela 6)

Tabela 5: Korelacije između vrednosti kortizola i parametara utreniranosti sportista i kontrola neizoloženih stresu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 kort m	1	0.797**	0.602**	0.572**	0.181	0.153	0.372**	0.051	.0140
2 kort p		1	0.836**	0.767**	0.223	0.028	0.209*	-0.041	0.110
3 kort max			1	0.953**	0.112	0.095	0.259*	0.081	0.171
4 kort o				1	0.029	0.053	0.260*	0.121	0.245
5 VO₂max					1	-0.019	-0.088	-0.198	-0.380**
6 f M						1	0.569**	0.104	0.160
7 f P							1	0.342**	0.327*
8 f MAX								1	0.537**
9 f O									1

VO₂max, maksimalna potrošnja kiseonika; f, srčana frekvencija; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna korelacija; **, visoko statistički značajna korelacija

Tabela 6: Linearna regresiona analiza predikcije vrednosti kortizola od strane fm

	F	p	B	Beta	95%CI
kortizol m	11.7	0.001	3.71	0.399	1.5-5.9
kortizol p	4.2	0.044	2.49	0.245	0.1-4.9
kortizol max	6.9	0.010	3.89	0.309	0.9-6.8
kortizol o	5.4	0.023	3.58	0.286	0.5-6.6

fm, srčana frekvencija u mirovanju; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

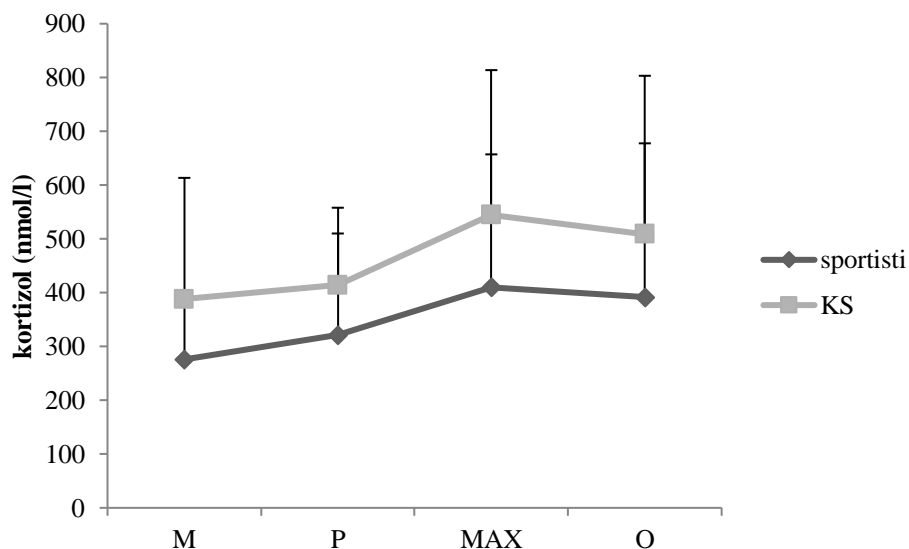
Kada je u pitanju odnos između sportista i kontrola koje su bile izložene psihičkom stresu, kontrolni ispitanici su imali više vrednosti kortizola u svim tačkama testa. Ova razlika je bila značajna u mirovanju i tokom anticipacije, dok se značajnost razlike izgubila tokom samog testa opterećenja (tabela 7).

Tabela 7: Razlike u pojedinačnim vrednostima kortizola između sportista i kontrola izloženih psihičkom stresu

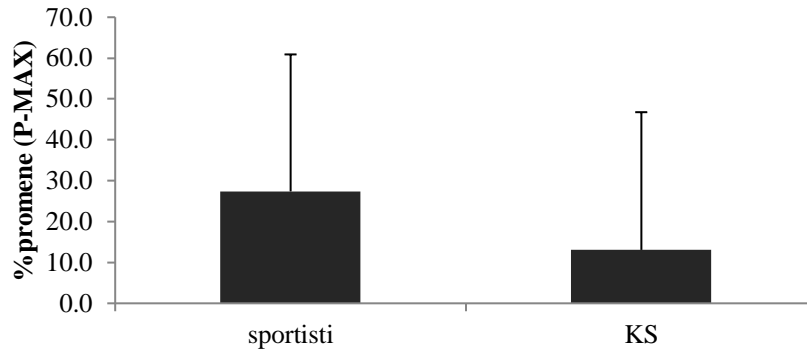
	S	KS	p
kortizol m (nmol/l)	275.9 (118.2)	388.2 (225.2)	<0.001
kortizol p (nmol/l)	321.5 (188.5)	414.1 (143.8)	0.008
kortizol max (nmol/l)	409.8 (247.3)	544.5 (269.2)	0.153
kortizol o (nmol/l)	391.5 (286.1)	509.0 (294.2)	0.193

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Isto je u skladu sa razlikom u načinu odgovora kortizola tokom ergospirometrije (vreme $F_{1,614}=24.98$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1,614}=3.68$, $p=0.038$), sa naglašenijim odgovorom sportista između P i MAX, mada razlika nije dostigla statističku značajnost ($F_1=3.54$, $p=0.065$) (grafik 6). Isto je u skladu sa registrovanim procentima promene nivoa kortizola između P i MAX ($p=0.080$) (grafik 7).



Grafik 6: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista i kontrola izloženih psihološkom stresu. KS, kontrole izložene stresu; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka



Grafik 7: Razlike u procentima promene kortizola između P i MAX između sportista i kontrola izloženih stresu. KS, kontrole izložene psihološkom stresu

Nasuprot KN, kontrole izložene psihičkom stresu su se u odnosu na sportiste razlikovale samo u maksimalnoj potrošnji kiseonika (tabela 8). Nivoi kortizola su korelisali sa srčanom frekvencom na početku testa i u 3. minutu oporavka (tabela 9). I fp i fo su bile značajni prediktori svih vrednosti kortizola (tabele 10 i 11)

Tabela 8: Razlike u pojedinačnim vrednostima potrošnje kiseonika između sportista i kontrola izloženih psihičkom stresu

	S	KS	p
VO ₂ m (ml/min/kg)	4.8 (2.8)	5.7 (2.9)	0.170
VO ₂ p (ml/min/kg)	5.3 (2.4)	5.8 (2.5)	0.352
VO ₂ max (ml/min/kg)	51.3 (11.2)	45.1 (10.5)	<0.001
VO ₂ o (ml/min/kg)	10.0 (2.4)	10.7 (6.2)	0.259

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); KS, kontrole izložene psihičkom stresu; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

Tabela 9: Korelacije između vrednosti kortizola i parametara utreniranosti sportista i kontrola izloženih stresu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 kort M	1	0.706**	0.573**	0.568**	-0.135	0.414**	0.510**	0.106	0.405**
2 kort P		1	0.834**	0.779**	-0.036	0.238*	0.371**	0.077	0.282*
3 kort MAX			1	0.965**	-0.013	0.158	0.338**	0.217	0.378**
4 kort O				1	-0.046	0.109	0.317*	0.181	0.406**
5 VO ₂ max					1	-0.096	-0.137	-0.070	-0.445**
6 f M						1	0.702**	0.062	0.303*
7 f P							1	0.291	0.408**
8 f MAX								1	0.583**
9 f O									1

P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna korelacija; **, visoko statistički značajna korelacija

Tabela 10: Linearna regresiona analiza predikcije vrednosti kortizola od strane fm

	F	p	B	Beta	95%CI
kortizol m	16.5	<0.001	3.82	0.459	1.9-5.7
kortizol p	11.7	0.001	3.18	0.398	1.3-5.1
kortizol max	11.2	0.001	3.95	0.391	1.6-6.3
kortizol o	7.7	0.008	3.61	0.344	0.9-6.2

fm, srčana frekvencija u mirovanju; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Tabela 11: Linearna regresiona analiza predikcije vrednosti kortizola od strane fo

	F	p	B	Beta	95%CI
kortizol m	10.1	0.002	3.24	0.375	1.2-5.3
kortizol p	7.4	0.008	2.72	0.327	0.7-4.7
kortizol max	14.5	<0.001	4.63	0.441	2.2-7.0
kortizol o	11.7	0.001	4.51	0.412	1.9-7.2

fo, srčana frekvencija u 3. minutu oporavka; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

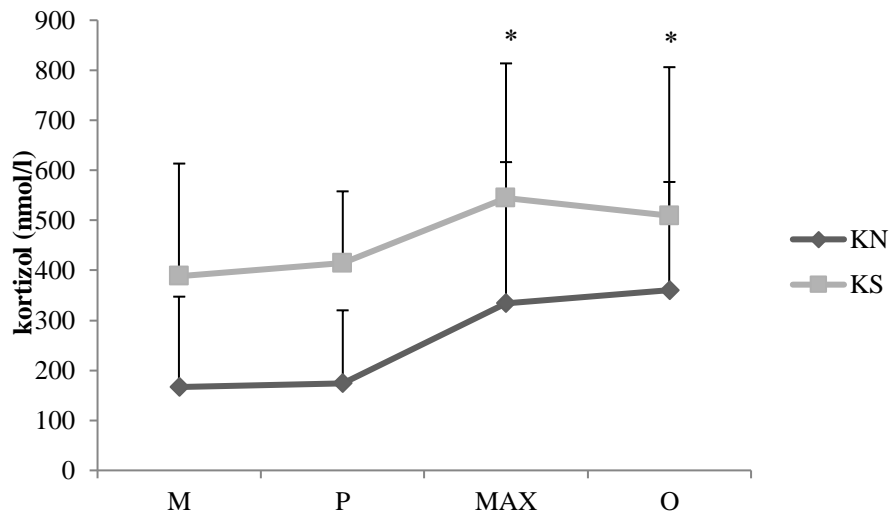
Prethodni rezultati su u skladu sa rezultatima dobijenim kada su međusobno upoređene dve kontrolne grupe (KN i KS). Kontrole izložene psihičkom stresu su imale značajno više vrednosti kortizola u svim tačkama testa (tabela 12).

Tabela 12: Razlike u pojedinačnim vrednostima kortizola između kontrola neizloženih stresu i kontrola izloženih psihičkom stresu

	KN	KS	p
kortizol m (nmol/l)	166.7 (180.7)	388.2 (225.2)	<0.001
kortizol p (nmol/l)	174.2 (145.8)	414.1 (143.8)	<0.001
kortizol max (nmol/l)	334.2 (282.2)	544.5 (269.2)	0.007
kortizol o (nmol/l)	360.4 (216.3)	509.0 (294.2)	0.015

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

Obe grupe su imale značajan odgovor kortizola tokom testa ($F_{1,604}=31.50$, $p<0.001$), ali su se razlikovale u obrascu odgovora ($F_{1,604}=10.88$, $p<0.001$). Razlika je postojala između P i MAX ($F_1=9.75$, $p=0.004$), kada je naglašeniji odgovor registrovan kod kontrola neizloženih stresu, i između MAX i O ($F_1=4.60$, $p=0.039$), kada su vrednosti kortizola polako počele da padaju kod kontrola izloženih psihičkom stresu, dok su još uvek rastle kod kontrola neizloženih stresu (grafik 8).



Grafik 8: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola neizloženih stresu i kontrola izloženih psihičkom stresu. KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika u načinu odgovora između KN i KS

U skladu sa pretpostavkom o nivou utreniranosti, dve grupe su se prema potrošnji kiseonika razlikovale samo u mirovanju i oporavku (tabela 13).

Tabela 13: Razlike u pojedinačnim vrednostima potrošnje kiseonika između sportista i kontrola izloženih psihičkom stresu

	KN	KS	p
VO₂ m (ml/min/kg)	3.2 (1.7)	5.7 (2.9)	<0.001
VO₂ p (ml/min/kg)	4.5 (2.8)	5.8 (2.5)	0.290
VO₂ max (ml/min/kg)	39.7 (5.9)	45.1 (10.5)	0.099
VO₂ o (ml/min/kg)	8.4 (2.7)	19.7 (6.2)	0.018

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); KS, kontrole izložene psihičkom stresu; m, mirovanje; p, početak testa; max, maksimalno opterećenje; o, 3. minut oporavka

1.2. ODGOVOR ACTH TOKOM ERGOSPIROMETRIJSKOG TESTA

U grupi sportista, razlika u vrednostima ACTH u M i P je postojala na račun značajno viših vrednosti kod odbojkaša u odnosu na vaterpoliste ($p=0.016$ za M, odnosno $p=0.039$ za P), kao i u odnosu na rvače ($p=0.005$ za M, odnosno $p=0.015$ za P)

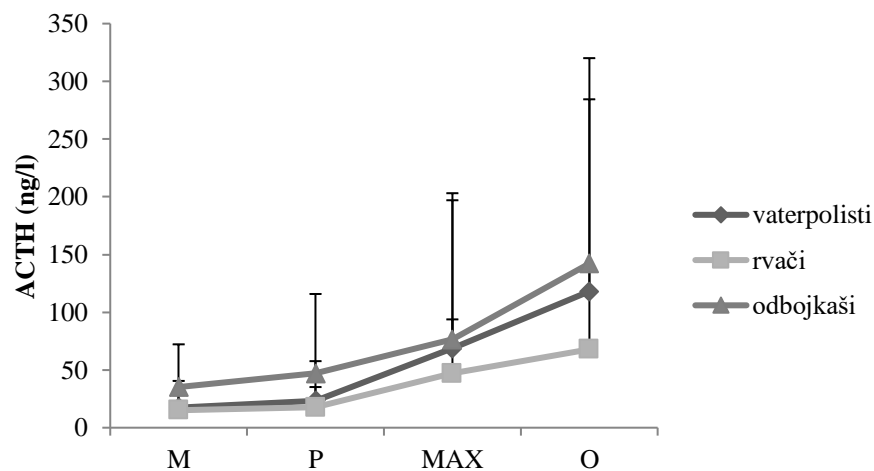
(tabela 14). Vaterpolisti i rvači se nisu razlikovali u vrednostima ACTH ($p>0.05$ za sve tačke testa).

Tabela 14: Razlike u pojedinačnim vrednostima ACTH kod sportista

	V	R	O	p
ACTH m (ng/l)	17.4 (23.1)	15.1 (13.1)	35.2 (37.0)	0.014
ACTH p (ng/l)	23.4 (34.3)	17.6 (15.1)	47.0 (68.8)	0.036
ACTH max (ng/l)	68.5 (128.5)	46.9 (45.5)	76.3 (126.8)	0.102
ACTH o (ng/l)	118.0 (166.5)	67.8 (158.3)	142.1 (178.0)	0.378

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Uprkos razlikama u pojedinačnim vrednostima ACTH, nije bilo razlike u načinu odgovora ACTH tokom testa (vreme $F_{2,105}=119.58$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{4,210}=2.168$, $p=0.968$) (grafik 9). Nasuprost promeni vrednosti kortizola, vrednosti ACTH su tokom oporavka nastavile da rastu.



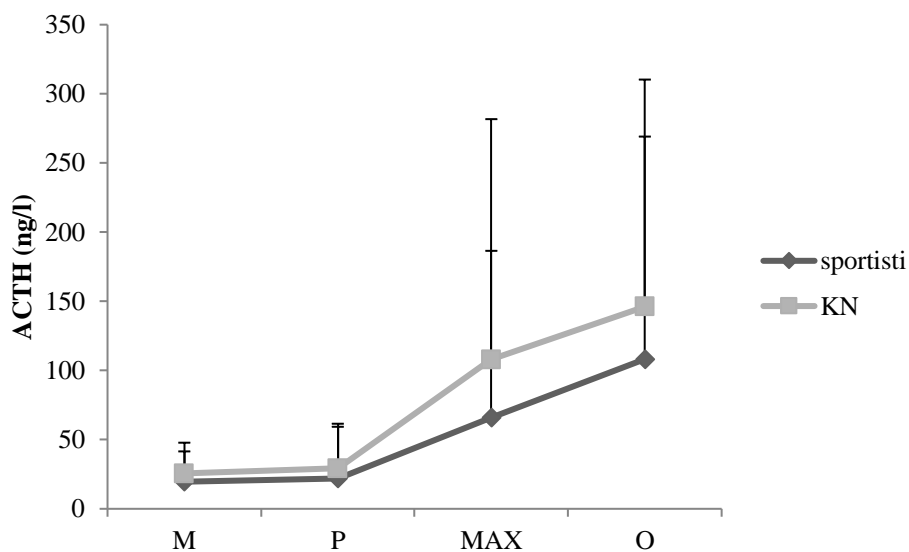
Grafik 9: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod 3 različite grupe sportista. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Posmatrajući sportiste grupno, nije bilo značajne razlike u pojedinačnim vrednostima ACTH tokom testa u poređenju sa kontrolama neizloženim stresu (tabela 15). Kao i prethodno, registrovan je značajan skok ACTH kroz vreme i to u obe grupe ($F_{1,978}=201.98$, $p<0.001$), ali u načinu odgovora nije bilo razlike između sportista i KN ($F_{1,978}=0.278$, $p=0.755$) (grafik 10).

Tabela 15: Razlike u pojedinačnim vrednostima ACTH između sportista i kontrola neizoloženih stresu

	S	KN	p
ACTH m (ng/l)	19.0 (20.5)	25.6 (22.2)	0.100
ACTH p (ng/l)	20.2 (36.0)	29.1 (30.2)	0.144
ACTH max (ng/l)	66.5 (113.4)	107.8 (173.9)	0.125
ACTH o (ng/l)	108.2 (154.1)	146.1 (164.2)	0.083

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 10: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod sportista i kontrola neizloženih stresu. KN, kontrole neizložene stresu; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

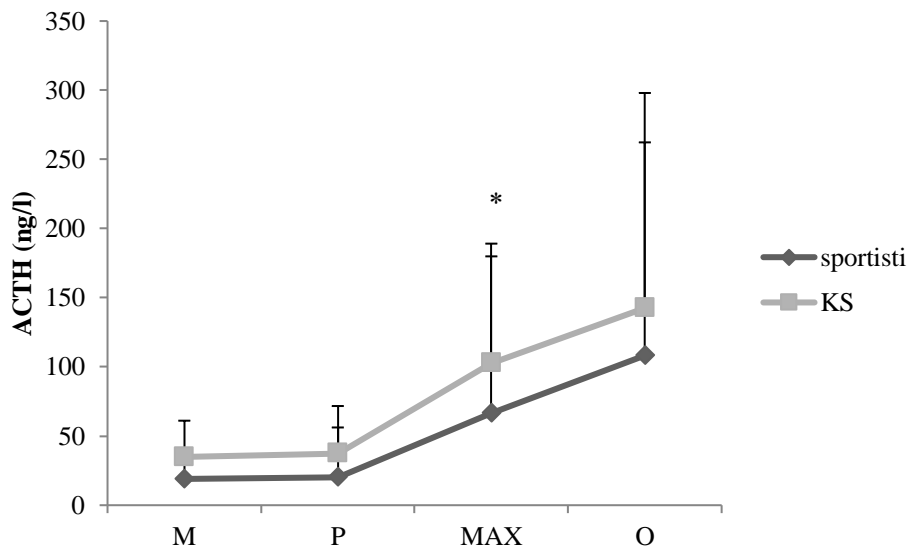
Kontrole izložene psihičkom stresu su imale više vrednosti ACTH u odnosu na celokupnu grupu sportista, a slično kao i kada su u pitanju vrednosti kortizola, ovo je bilo značajno u mirovanju, i na granici značajnosti na početku testa (tabela 16). Registrovana razlika poticala je od značajno viših vrednosti ACTH kod kontrola izloženih psihičkom stresu u odnosu na vaterpoliste ($p=0.007$ za M, $p=0.052$ za P, $p=0.728$ za MAX, $p=0.839$ za O) i u odnosu na rvače ($p=0.001$ za M, $p=0.003$ za P, $p=0.123$ za MAX, $p=0.502$ za O), dok nije bilo značajne razlike u odnosu na odbojkaše ($p=0.650$ za M, $p=0.711$ za P, $p=0.385$ za MAX i $p=0.588$ za O).

Tabela 16: Razlike u pojedinačnim vrednostima ACTH između sportista i kontrola izoloženih psihičkom stresu

	S	KS	p
ACTH m (ng/l)	19.0 (20.5)	34.9 (26.2)	0.017
ACTH p (ng/l)	20.2 (36.0)	37.3 (34.4)	0.051
ACTH max (ng/l)	66.5 (113.4)	102.6 (86.5)	0.634
ACTH o (ng/l)	108.2 (154.1)	142.5 (155.5)	0.797

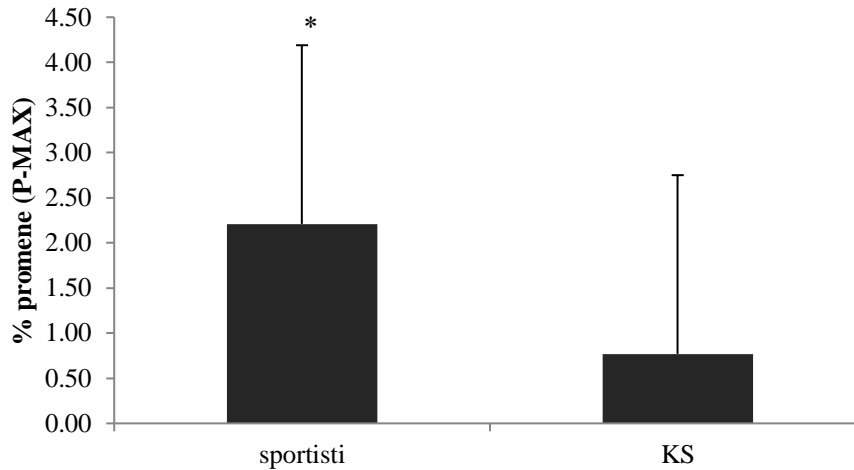
vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Slično kao i kod kortizola, registrovana je razlika u načinu odgovora ACTH tokom testa (vreme $F_{1,954}=113.39$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1,954}=4.365$, $p=0.016$) (grafik 11). Ova razlika je postojala na račun naglašenijeg odgovora sportista u odnosu na ovu grupu kontrola (P vs MAX: $F_1=4.420$, $p=0.040$).



Grafik 11: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod sportista i kontrola izloženih psihičkom stresu. KS, kontrole izložene psihičkom stresu; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika u načinu odgovora između sportista i KS

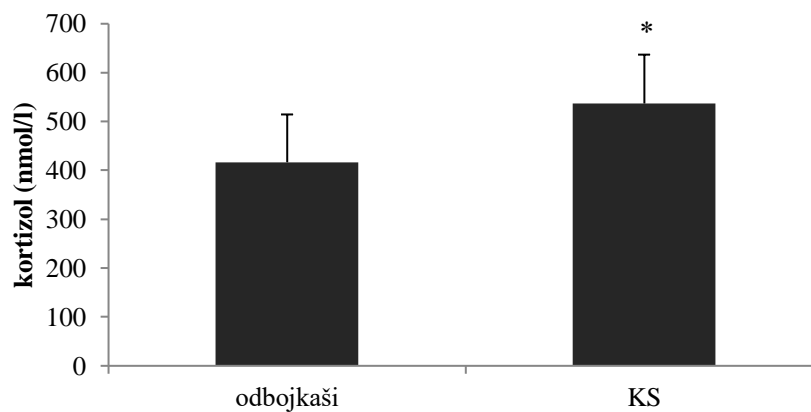
Isto je u skladu sa većim procentom promene vrednosti ACTH između početka testa i maksimalnog opterećenja kod sportista ($p=0.042$) (grafik 12).



Grafik 12: Razlika u procentu promene vrednosti ACTH između sportista i kontrola izloženih stresu. KS, kontrole izložene psihičkom stresu; *, statistički značajna razlika

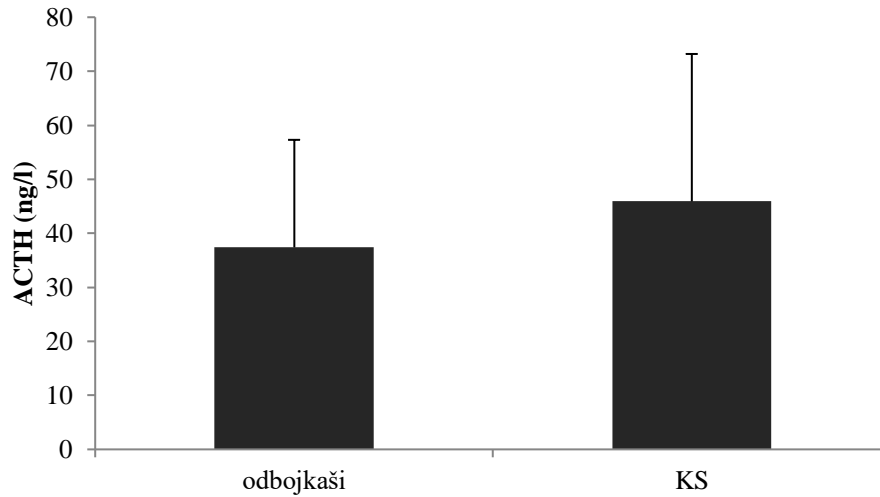
2. BAZNE (JUTARNJE) VREDNOSTI KORTIZOLA I ACTH

Poređene su jutarnje vrednosti kortizola između odbojkaša i kontrola izloženih psihičkom stresu. Sportisti su imali statistički značajno niže i jutarnje vrednosti kortizola u odnosu na ove ispitanike ($p=0.001$) (grafik 13).



Grafik 13: Razlika u baznim vrednostima kortizola između odbojkaša i kontrola izloženih psihičkom stresu; *, statistički značajna razlika

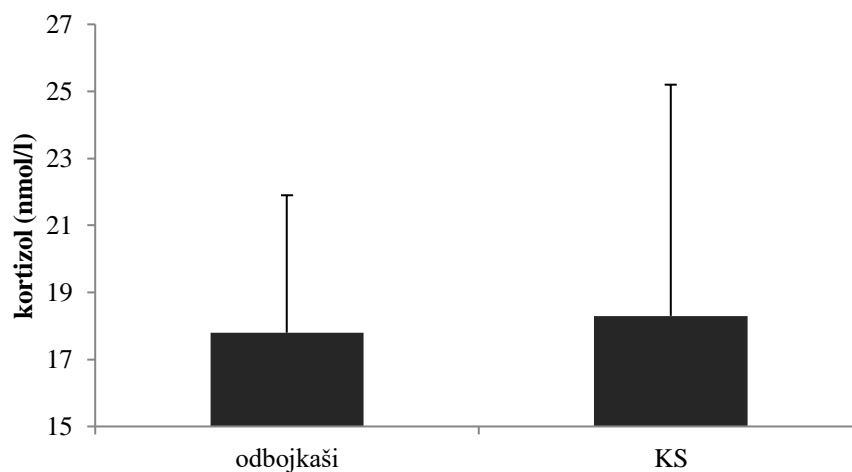
Međutim, nije bilo značajne razlike u jutarnjim vrednostima ACTH između dve grupe ($p=0.118$) (grafik 14).



Grafik 14: Razlika u baznim vrednostima ACTH između odbojkaša i kontrola izloženih psihičkom stresu

3. DEKSAMETAZONSKA SUPRESIJA

Sportisti i psihičkom stresu izložene kontrole nisu se razlikovali u vrednostima kortizola nakon deksametazonske supresije sa 1 mg deksametazona ($p=0.339$) (grafik 15).



Grafik 15: Razlika u vrednostima kortizola nakon deksametazonske supresije između odbojkaša i kontrola izloženih stresu.

4. GENETIČKA ANALIZA

4.1. GENOTIP GLUKOKORTIKOIDNOG RECEPTORA

Analiza polimorfizma gena za glukokortikoidni receptor je izvršena kod svih ispitanika. S obzirom da je ER22/23EK polimorfizam detektovan samo kod jednog ispitanika, ovaj polimorfizam nije dalje analiziran u studiji.

4.1.1 *BclI* POLIMORFIZAM

Zastupljenost *BclI* polimorfizma je prikazana u tabeli 17. Distribucija pojedinačnih alela *BclI* restrikcionog fragmenta gena za GR je prikazana u tabeli 10, i bila je u skladu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom kod vaterpolista ($\chi^2_{(2)}=2.704$, $p=0.259$), rvača ($\chi^2_{(2)}=0.009$, $p=0.996$), odbojkaša ($\chi^2_{(2)}=0.127$, $p=0.938$), kontrola neizloženih stresu ($\chi^2_{(2)}=1.149$, $p=0.284$), kao i kod kontrola izloženih psihičkom stresu ($\chi^2_{(2)}=1,180$, $p=0.554$) (tabela 18).

Tabela 17: Zastupljenost *BclI* genetičkog polimorfizma

	wild type (GG)	heterozigot (GC)	homozigot (CC)
vaterpolisti	5 (23.8%)	14 (66.7%)	2 (9.5%)
rvači	8 (53.3%)	6 (40.0%)	1 (6.7%)
odbojkaši	10 (52.6%)	7 (36.8%)	2 (10.5%)
kontrole KN	9 (45.0%)	11 (55.0%)	0
kontrole KS	5 (27.8%)	10 (55.6%)	3 (16.7%)

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 18: Frekvencija različitih alela *BclI* polimorfizma

	Vaterpolisti	Rvači	Odbojkaši	KN	KS
fG alela	0.57	0.73	0.71	0.725	0.56
fC alela	0.43	0.27	0.29	0.275	0.44

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

S obzirom da je u svim ispitivanim grupama registrovan mali broj ispitanika sa CC genotipom, ispitanici su podeljeni na dve grupe prema postojanju (GC i CC genotip) i nepostojanju (GG genotip) *BclI* polimorfizma gena za GR. Zastupljenost *BclI*

polimorfizma se nije značajno razlikovala među grupama ($\chi^2_{(8)}=9.081$, $p=0.335$). Razlika u frekvencama pojedinačnih alela nije bila statistički značajna među grupama ($p=0.220$).

4.1.2. N363S POLIMORFIZAM

Zastupljenost N363S polimorfizma je prikazana u tabeli 19. Distribucija pojedinačnih alela N363S fragmenta gena za GR je bila u skladu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom kod vaterpolista ($\chi^2_{(2)}=0.248$, $p=0.618$), rvača ($\chi^2_{(2)}=0.000$, $p>0.005$), i kod kontrola ($\chi^2_{(2)}=0.193$, $p=0.660$) (tabela 20). S obzirom da u ispitivanim grupama nisu registrovani homozigoti sa GG genotipom, ispitanici su podeljeni na dve grupe prema postojanju (AG genotip) i nepostojanju (AA genotip) N363S polimorfizma. Zastupljenost N363S polimorfizma se nije značajno razlikovala među grupama iako je razlika bila na granici statističke značajnosti, ($\chi^2_{(2)}=9.153$, $p=0.057$), ali nije bilo razlike u frekvencama pojedinačnih alela ($p=0.091$).

Tabela 19: Zastupljenost N363S genetičkog polimorfizma

	wild type (AA)	heterozigot (AG)	homozigot (GG)
vaterpolisti	14 (66.7%)	7 (33.3%)	0
rvači	14 (93.3%)	1 (6.7%)	0
odbojkaši	18 (94.7%)	1 (5.3%)	0
kontrole KN	14 (70.0%)	6 (30.0%)	0
kontrole KS	16 (89.5%)	2 (10.5%)	0

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 20: Frekvencija različitih alela N363S polimorfizma

	Vaterpolisti	Rvači	Odbojkaši	KN	KS
fN alela	0.83	0.97	0.97	0.85	0.94
fS alela	0.17	0.03	0.03	0.15	0.06

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

4.1.3. A3669G POLIMORFIZAM U EGZONU 9 β

Zastupljenost A3669G polimorfizma je ispitivana u grupama odbojkaši i kontrole KS (tabela 21). Distribucija pojedinačnih alela A3669G fragmenta je bila u skadu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom i kod odbojkaša ($\chi^2_{(2)}=1.495$, $p=0.474$), i kod kontrola KS ($\chi^2_{(1)}=0.178$, $p=0.673$) (tabela 22). S obzirom na mali broj registrovanih homozigota sa GG genotipom, ispitanici su podeljeni na dve grupe prema postojanju (AG/GG genotip) i nepostojanju (AA genotip) A3669G polimorfizma. Zastupljenost A3669G polimorfizma se nije značajno razlikovala među grupama ($\chi^2_{(2)}=1.122$, $p=0.571$), kao ni frekvence pojedinačnih alela ($p=0.157$).

Tabela 21: Zastupljenost A3669G genetičkog polimorfizma

	wild type (AA)	heterozigot (AG)	homozigot (GG)
odbojkaši	14 (73.7%)	4 (21.1%)	1 (5.3%)
kontrole KS	13 (72.2%)	5 (27.8%)	0

KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 22: Frekvencija različitih alela A3669G polimorfizma

	Odbojkaši	KS
fA alela	0.84	0.86
fG alela	0.16	0.14

KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

4.2. GENOTIP MINERALOKORTIKOIDNOG RECEPTORA

S obzirom da S810L polimorfizam gena za MR receptor nije detektovan ni kod jednog ispitanika, ovaj polimorfizam nije dalje mogao biti analiziran u studiji.

4.2.1. POLIMORFIZAM -2G/C

Zastupljenost -2G/C polimorfizma je ispitivana u grupama odbojkaši i kontrole KS (tabela 23). Karakterizacija tehnički nije uspela kod 3 ispitanika iz grupe KS (analizirano je samo 15 ispitanika). Distribucija pojedinačnih alela je bila u skadu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom i kod odbojkaša ($\chi^2_{(2)}=1.000$, $p=0.607$), i kod

kontrola KS ($\chi^2_{(1)}=0.059$, $p=0.971$) (tabela 24). Zastupljenost -2G/C polimorfizma se nije značajno razlikovala među grupama ($\chi^2_{(2)}=1.910$, $p=0.385$), kao ni frekvence pojedinačnih alela ($p=0.157$).

Tabela 23: Zastupljenost -2G/C genetičkog polimorfizma

	wild type (GG)	heterozigot (GC)	homozigot (CC)
odbojkaši	7 (33.4%)	7 (38.9%)	5 (27.8%)
kontrola KS	4 (23.5%)	9 (42.9%)	2 (23.5%)

KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 24: Frekvencija različitih alela -2G/C polimorfizma

	Odbojkaši	KS
fG alela	0.55	0.57
fC alela	0.45	0.43

KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

4.2.2. POLIMORFIZAM I180V

Zastupljenost I180V polimorfizma je ispitivana u grupama odbojkaši i kontrole KS (tabela 25). Distribucija pojedinačnih alela je bila u skladu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom i kod odbojkaša ($\chi^2_{(1)}=0.014$, $p=0.905$), i kod kontrola KS ($\chi^2_{(1)}=0.002$, $p=0.961$) (tabela 26). S obzirom da nije bilo registrovanih homozigota sa GG genotipom, ispitanici su podjeljeni na dve grupe prema postojanju (AG genotip) i nepostojanju (AA genotip) I180V polimorfizma. Zastupljenost se nije značajno razlikovala među grupama ($\chi^2_{(1)}=1.004$, $p=0.316$), kao ni frekvence alela ($p=0.157$).

Tabela 25: Zastupljenost I180V genetičkog polimorfizma

	wild type (AA)	heterozigot (AG)	homozigot (GG)
odbojkaši	16 (84.2%)	3 (15.8%)	0
kontrola KS	17(94.4%)	1 (5.6%)	0

KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 26: Frekvencija različitih alela I180V polimorfizma

	Odbojkaši	KS
fA alela	0.92	0.97
fG alela	0.08	0.03

KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

4.3. GENOTIP ADRENOKORTIKOTROPNOG RECEPTORA (MC2R)

Zastupljenost polimorfizma u promotorskom regionu gena za MC2R je prikazana u tabeli 27. Karakterizacija tehnički nije uspela kod jednog ispitanika iz grupe KS (analizirano je 17 ispitanika). Distribucija pojedinačnih alela je bila u skladu sa Hardy-Weinbergovom ravnotežom kod vaterpolista ($\chi^2_{(1)}=0.007$, $p=0.933$), odbojkaša ($\chi^2_{(1)}=0.152$, $p=0.697$), kontrola neizloženih stresu ($\chi^2_{(1)}=0.005$, $p=0.942$), kao i kod kontrola izloženih psihičkom stresu ($\chi^2_{(1)}=0.005$, $p=0.942$) (tabela 28). S obzirom da u ispitivanim grupama nisu registrovani homozigoti sa CC genotipom, ispitanici su podeljeni na dve grupe prema postojanju (TC genotip) i nepostojanju (TT genotip) MC2R promotorskog polimorfizma.

Tabela 27: Zastupljenost MC2R genetičkog polimorfizma

	wild type (TT)	heterozigot (TC)	homozigot (CC)
vaterpolisti	16 (76.2%)	5 (23.8%)	0
rvači	15 (100%)	0	0
odbojkaši	13 (68.4%)	6 (31.6%)	0
kontrole KN	18 (90.0%)	2 (10.0%)	0
kontrole KS	15 (88.2%)	2 (11.8%)	0

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu

Tabela 28: Frekvencija različitih alela MC2R polimorfizma

	Vaterpolisti	Rvači	Odbojkaši	KN	KS
fT alela	0.88	1.0	0.84	0.95	0.94
fC alela	0.12	0	0.16	0.05	0.06

KN, kontrole neizložene stresu; KS, kontrole izložene psihičkom stresu; f-frekvenca

Zastupljenost polimorfizma se nije značajno razlikovala među grupama ($\chi^2_{(4)}=7.877$, $p=0.096$), kao ni frekvencije pojedinačnih alela ($p=0.220$).

5. DIFERENCIJALNI ODGOVOR HORMONA HHN OSOVINE TOKOM STRESA U ZAVISNOSTI OD GENOTIPA

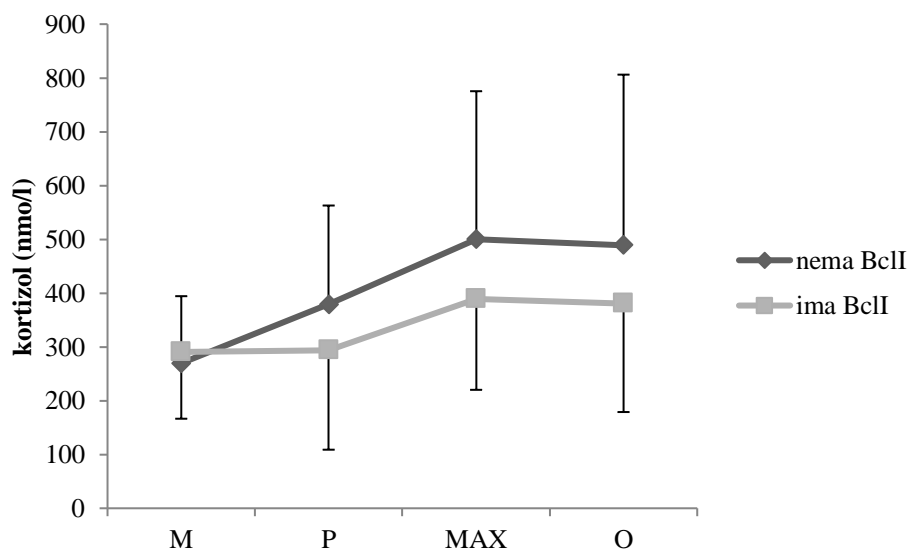
5.1. UTICAJ *BclII* POLIMORFIZMA GENA ZA GR

Sportisti sa *BclII* polimorfizmom dostigli su značajno niže vrednosti kortizola pri maksimalnom opterećenju u odnosu na one bez polimorfizma ($p=0.039$) (tabela 29). Uprkos tome, nije bilo značajne razlike između dve grupe u načinu odgovora kortizola, kako posmatrajući test u celini (vreme $F_{1,546}=39.18$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1,546}=1.522$, $p=0.227$), tako ni tokom pojedinačnih promena ($p>0.05$) (grafik 16).

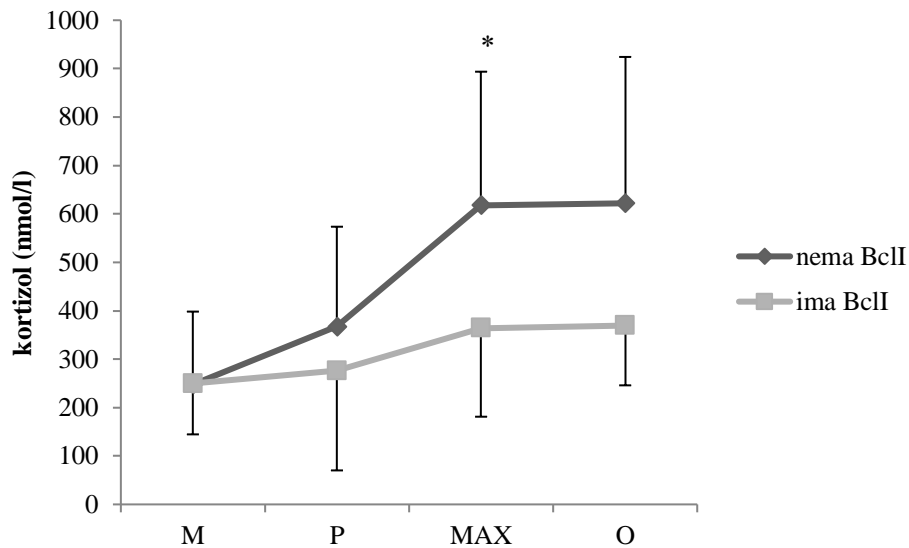
Tabela 29: Vrednosti kortizola kod sportista tokom testa u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma

	nema <i>BclII</i>	ima <i>BclII</i>	p
kortizol m (nmol/l)	269.7 (124.6)	290.6 (124.1)	0.825
kortizol p (nmol/l)	378.9 (183.9)	293.8 (184.9)	0.130
kortizol max (nmol/l)	500.1 (275.2)	389.1 (168.9)	0.039
kortizol o (nmol/l)	458.3 (317.0)	380.6 (201.7)	0.076

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 16: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka



Grafik 17: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod vaterpolista u zavisnosti od postojanja *BcII* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika u promeni

Značajnost razlike u načinu odgovora je dostignuta kod vaterpolista, gde su sportisti sa *BcII* polimorfizmom imali statistički značajno različit odgovor kortizola u odnosu na one bez polimorfizma ($F_{1,623}=4.780$, $p=0.021$) (grafik 17). Značajna razlika je postojala između P i MAX ($F_1=5.836$, $p=0.026$) sa odgovorom koji je bio atenuisan kod vaterpolista nosilaca *BcII* polimorfizma, čije su pojedinačne vrednosti kortizola bile značajno niže u MAX i O (tabela 30).

Tabela 30: Vrednosti kortizola kod vaterpolista tokom testa u zavisnosti od postojanja *BcII* polimorfizma

	nema <i>BcII</i>	ima <i>BcII</i>	p
kortizol m (nmol/l)	266.8 (98.8)	260.2 (88.5)	0.888
kortizol p (nmol/l)	358.2 (105.3)	309.9 (120.3)	0.425
kortizol max (nmol/l)	544.1 (148.4)	375.0 (134.2)	0.025
kortizol o (nmol/l)	571.1 (170.0)	374.9 (138.8)	0.017

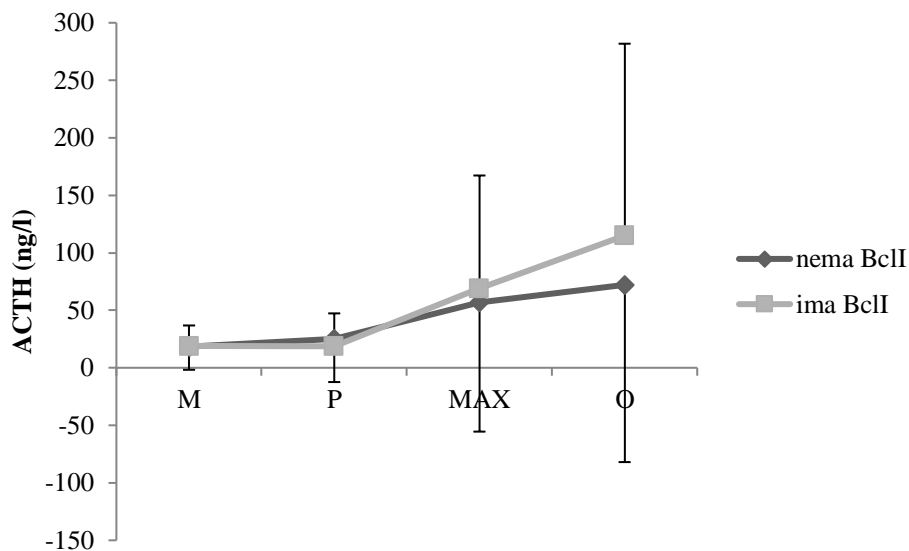
vrednosti su prikazane kao srednja vrednost (SD); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Postojanje *BcII* polimorfizma nije uticalo na nivo ACTH u svim tačkama testa (tabela 31), a nije uticalo ni na način odgovora ACTH tokom testa kod sportista (vreme $F_{2,101}=134.41$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{2,101}=0.771$, $p=0.314$) (grafik 18).

Tabela 31: Vrednosti ACTH kod sportista tokom testa u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma

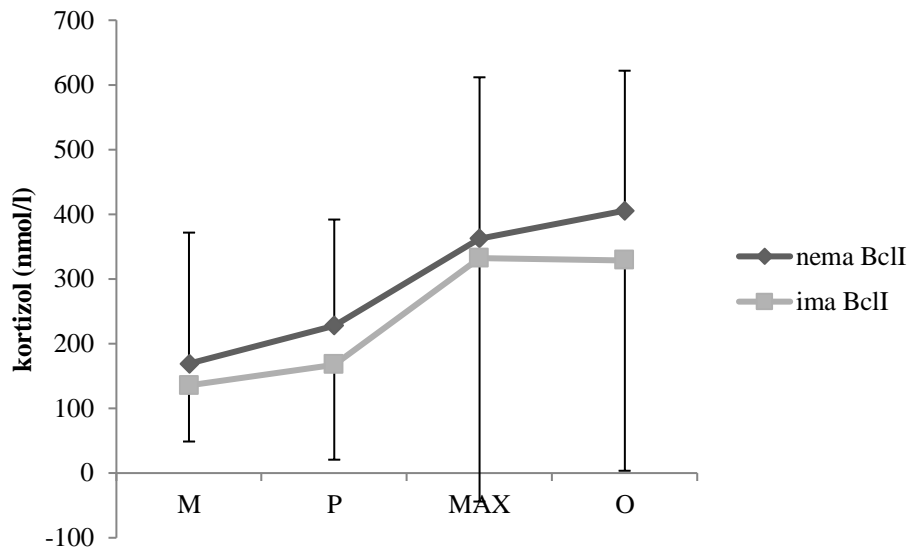
	nema <i>BclII</i>	ima <i>BclII</i>	p
ACTH m (ng/l)	15.3 (23.2)	18.2 (16.3)	0.879
ACTH p (ng/l)	19.6 (29.7)	18.4 (22.1)	0.440
ACTH max (ng/l)	56.1 (113.5)	68.1 (99.4)	0.839
ACTH o (ng/l)	72.1 (154.1)	114.9 (166.9)	0.643

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



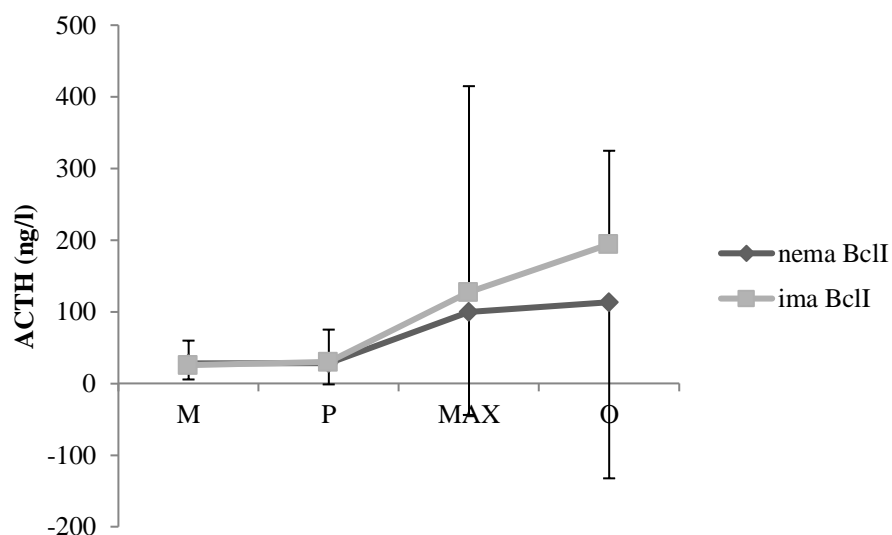
Grafik 18: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod sportista u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Kada su u pitanju kontrole neizložene stresu, postojanje *BclII* polimorfizma nije značajno uticalo ni na pojedinačne vrednosti kortizola ($p > 0.05$ za sve vrednosti), ni na način odgovora u stresu (vreme $F_{1.605} = 30.556$, $p < 0.001$, vremexgrupa $F_{1.605} = 1.595$, $p = 0.222$) (grafik 19).



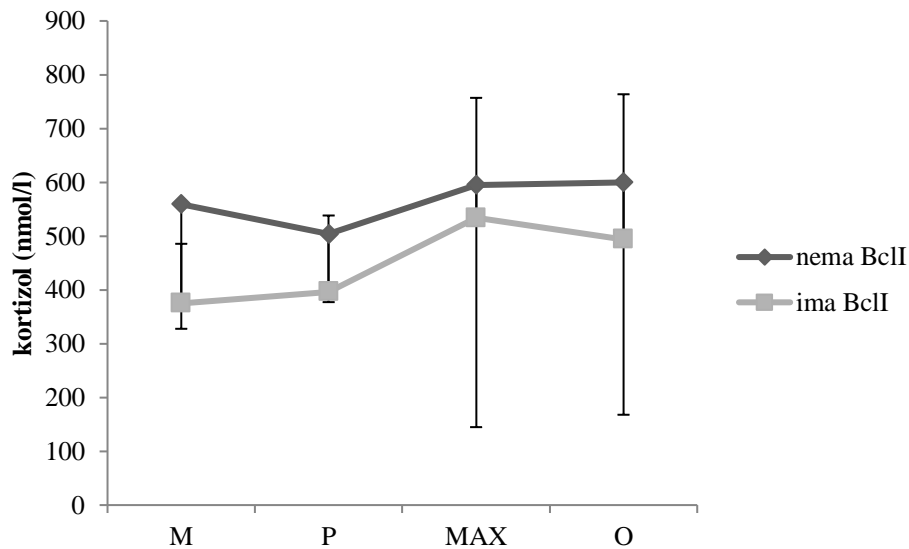
Grafik 19: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola neizloženih stresu u zavisnosti od postojanja *BclI* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Postojanje *BclI* polimorfizma nije uticalo ni na odgovor ACTH kod kontrola neizloženih stresu (vreme $F_{1,577}=78.30$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1,577}=0.589$, $p=0.523$) (grafik 20), a nije bilo razlike ni u pojedinačnim vrednostima ACTH tokom testa ($p>0.05$).



Grafik 20: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola neizloženih stresu u zavisnosti od postojanja *BclI* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Slično KN, kontrole izložene psihičkom stresu nisu se značajno razlikovale u pojedinačnim vrednostima kortizola tokom testa u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma ($p > 0.05$ za sve vrednosti), kao ni u načinu odgovora tokom stresa ($F_{1,414} = 4.58$, $p = 0.033$, vremexgrupa $F_{1,414} = 0.326$, $p = 0.650$) (grafik 21).



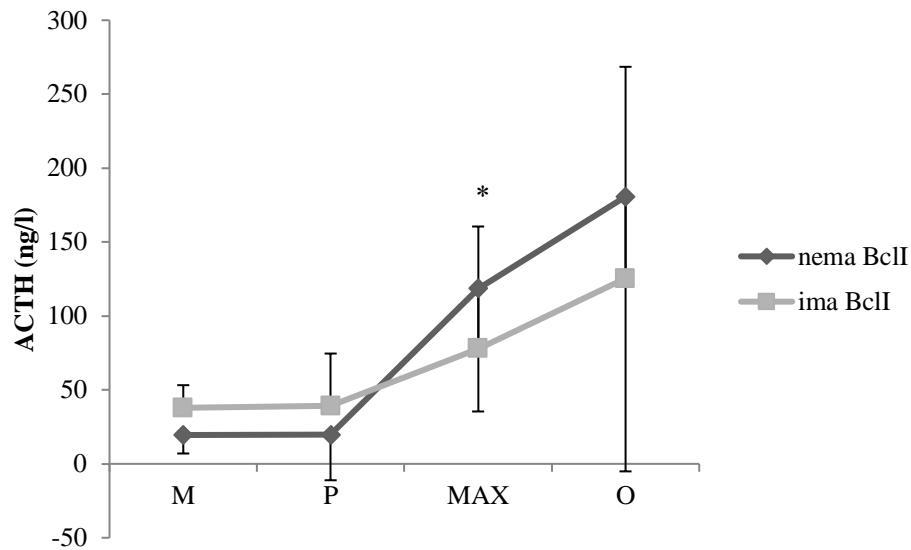
Grafik 21: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih psihičkom stresu u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

U grupi kontrola izloženih psihičkom stresu, nosioci *BclII* polimorfizma su imali značajno više vrednosti ACTH u mirovanju (tabela 32), ali se ova razlika izgubila tokom testa s obzirom na značajnu razliku u odgovoru ACTH tokom testa (vreme $F_{1,643} = 34.71$, $p < 0.001$, vremexgrupa $F_{1,643} = 5.09$, $p = 0.019$), u kome su osobe sa polimorfizmom imale atenuisan odgovor ACTH, sa značajno manjim skokom između P i MAX ($F_1 = 5.36$, $p = 0.035$) (grafik 22).

Tabela 32: Vrednosti ACTH kod kontrola izloženih psihičkom stresu tokom testa u zavisnosti od postojanja *BclII* polimorfizma

	nema <i>BclII</i>	ima <i>BclII</i>	p
ACTH m (ng/l)	19.5 (12.5)	37.9 (15.3)	0.027
ACTH p (ng/l)	19.7 (30.8)	39.1 (35.5)	0.328
ACTH max (ng/l)	118.6 (83.2)	77.9 (82.6)	0.383
ACTH o (ng/l)	180.7 (185.8)	125.4 (143.1)	0.328

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 22: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih psihičkom stresu u zavisnosti od postojanja *BclI* polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistički značajna razlika u promeni

5.2. UTICAJ N363S POLIMORFIZMA GENA ZA GR

Nasuprot uticaju *BclI* polimorfizma, sportisti sa N363S polimorfizmom su imali više vrednosti kortizola u odnosu na one bez polimorfizma, ali ova razlika nije bila statistički značajna (tabela 33).

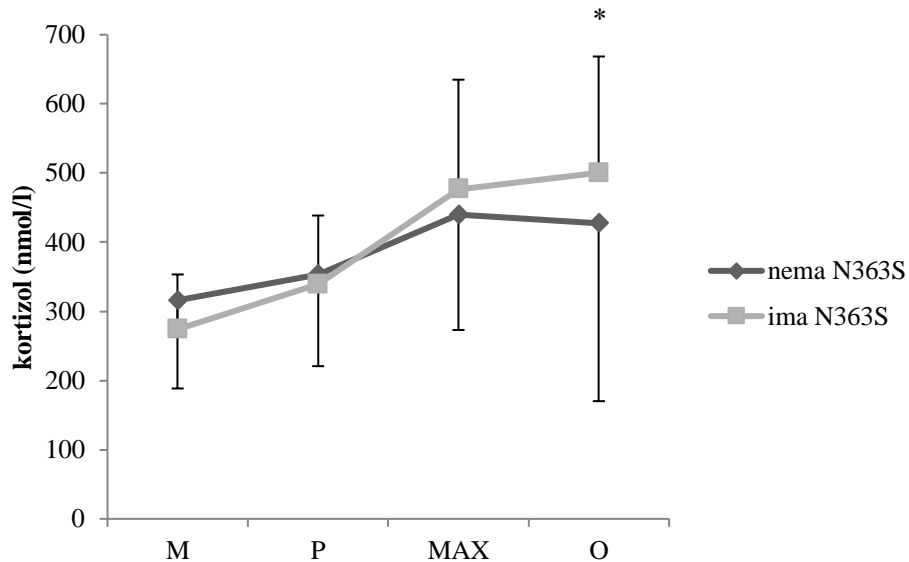
Tabela 33: Vrednosti kortizola kod sportista tokom testa u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma

	nema N363S	ima N363S	p
kortizol m (nmol/l)	275.9 (133.9)	274.1 (88.3)	0.170
kortizol p (nmol/l)	318.5 (188.5)	345.4 (193.3)	>0.05
kortizol max (nmol/l)	405.2 (242.6)	453.3 (284.7)	0.326
kortizol o (nmol/l)	380.6 (257.4)	441.9 (298.6)	0.259

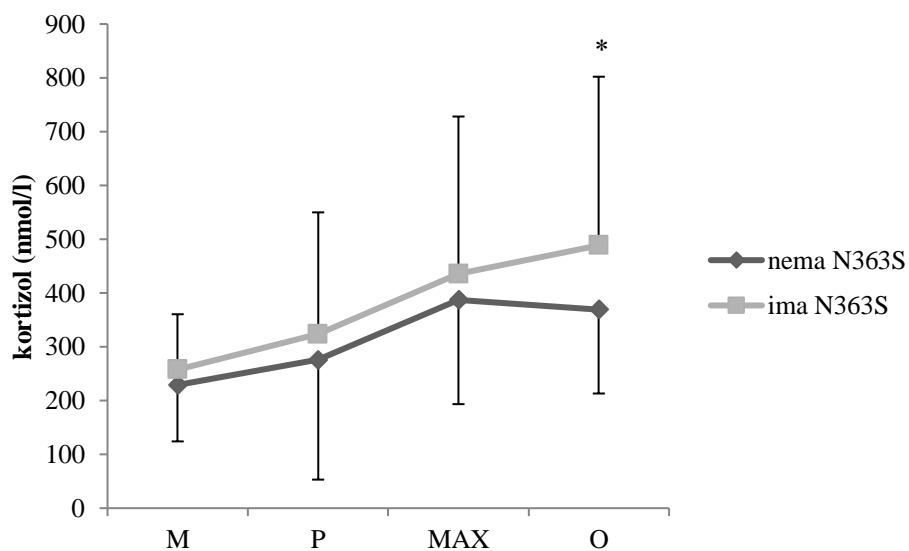
vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Međutim, postojala je razlika u načinu promene između grupa, na granici statističke značajnosti posmatrajući test u celini (vreme $F_{1.581}=36.04$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1.581}=3.30$, $p=0.054$), a značajno različita između MAX i O ($F_1=5.12$, $p=0.029$), tokom kog perioda su vrednosti kortizola i dalje rasle kod nosilaca

polimorfizma (grafik 23). Ova razlika je bila najizraženija u grupi vaterpolista (MAX i O: $F_1=2.085$, $p=0.016$) (grafik 24). Uprkos razlici u načinu promene, vrednosti kortizola između dve grupe nisu se značajno razlikovale ($p>0.05$ za sve tačke merenja).



Grafik 23: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistička značajnost



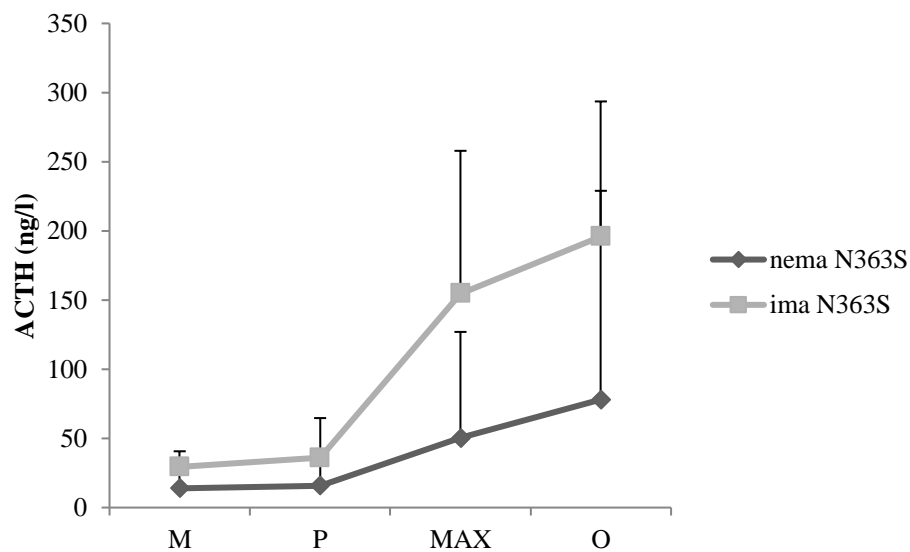
Grafik 24: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod vaterpolista u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistička značajnost

Kada je u pitanju ACTH, sportisti nosioci N363S polimorfizma imali su značajno više vrednosti ACTH u svim pojedinačnim tačkama testa (tabela 34). Međutim, nije bilo značajne razlike u načinu odgovora posmatrajući test sveukupno (vreme $F_{2,111}=95.87$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{2,111}=0.618$, $p=0.555$) i pojedinačne tačke ($p>0.05$) (grafik 25).

Tabela 34: Vrednosti ACTH kod sportista tokom testa u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma

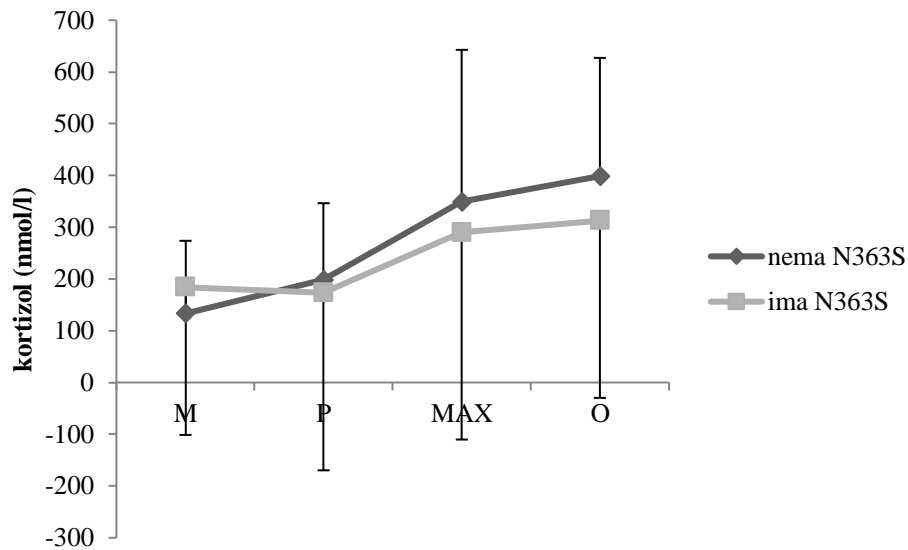
	nema N363S	ima N363S	p
ACTH m (ng/l)	13.9 (17.2)	29.4 (11.3)	0.031
ACTH p (ng/l)	15.9 (18.4)	35.9 (28.8)	0.027
ACTH max (ng/l)	50.3 (76.7)	154.7 (103.2)	0.005
ACTH o (ng/l)	78.1 (150.9)	195.9 (97.7)	0.041

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



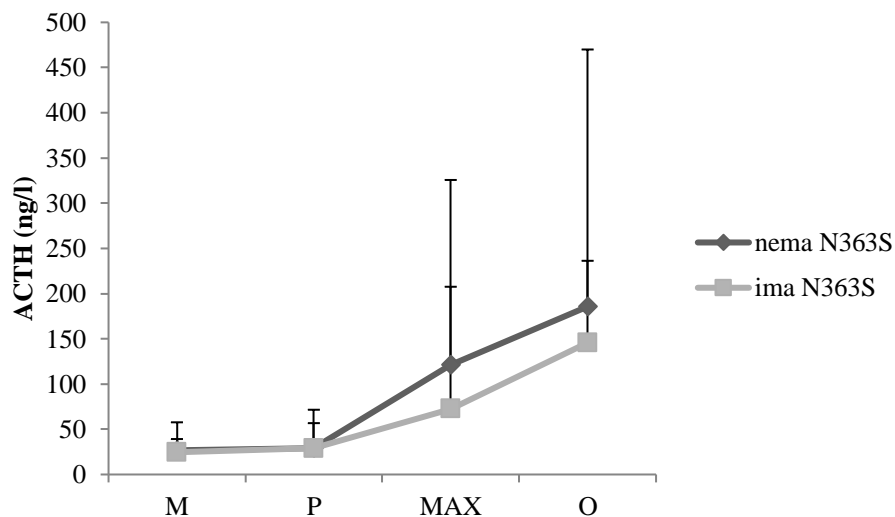
Grafik 25: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod sportista u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Kontrole neizložene stresu nisu se značajno razlikovale u pojedinačnim vrednostima kortizola u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma ($p>0.05$ u svim tačkama merenja), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora kortizola tokom testa opterećenja (vreme $F_{1,569}=23.473$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1,569}=0.277$, $p=0.706$) (grafik 26).



Grafik 26: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola neizloženih stresu u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

U istoj grupi N363S polimorfizam nije uticao ni na način odgovora ACTH (vreme $F_{1.550}=65.042$, $p<0.001$, vremexgrupa $F_{1.550}=0.244$, $p=0.728$) (grafik 27), ni na pojedinačne vrednosti ACTH u testu ($p>0.05$).



Grafik 27: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola neizloženih stresu u zavisnosti od postojanja N363S polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

S obzirom da je N363S polimorfizam registrovan kod samo 2 ispitanika u grupi KS, njegov uticaj na odogovor hormona HHN osovine nije analiziran u ovoj grupi.

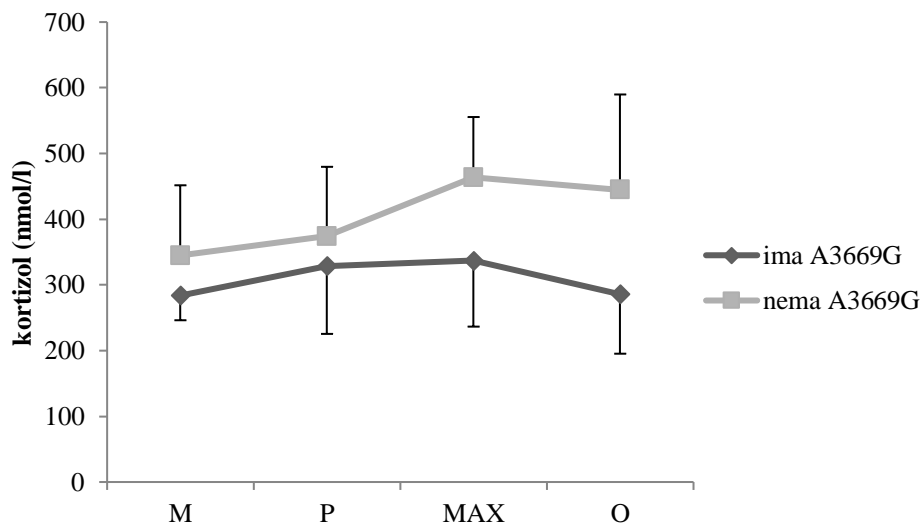
5.3. UTICAJ A3669G POLIMORFIZMA GENA ZA GR

Odbojkaši kod kojih je registrovano postojanje A3669G polimorfizma u odnosu na one bez polimorfizma imali su niže vrednosti kortizola, ali ova razlika nije bila statistički značajna (tabela 35). Kada se u celini posmatra odgovor kortizola tokom testa opterećenja, nije bilo značajne izmene vrednosti kortizola kroz vreme, a iako je tokom perioda oporavka registrovan suprotan smer izmene vrednosti kortizola, razlika u načinu odgovora nije dostigla statističku značajnost (test sveukupno: $F_{2,128}=2.85$, $p=0.092$; odgovor između MAX i O: $F_1=5.27$, $p=0.062$) (grafik 28).

Tabela 35: Vrednosti kortizola kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja A3669G polimorfizma

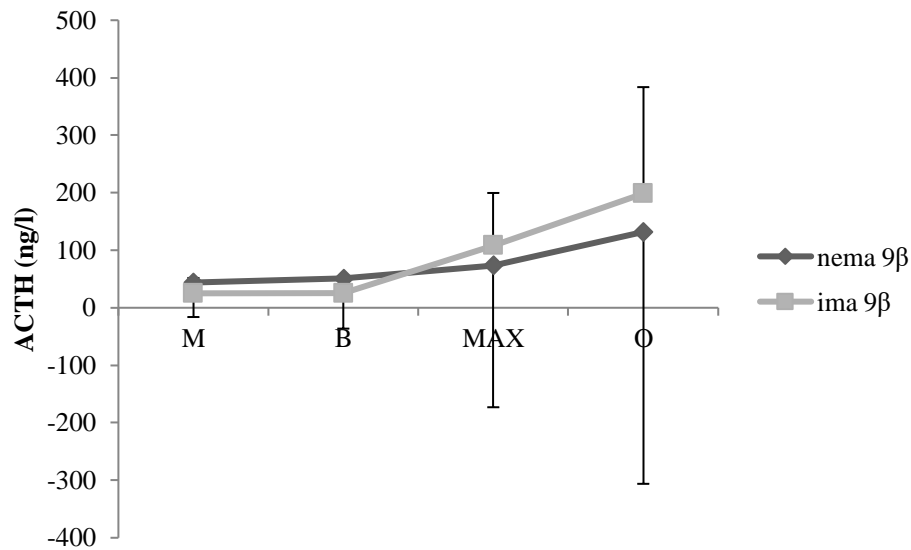
	nema A3669G	ima A3669G	p
kortizol m (nmol/l)	344.9 (106.7)	283.8 (37.6)	0.157
kortizol p (nmol/l)	374.1 (105.6)	328.9 (103.5)	0.497
kortizol max (nmol/l)	463.7 (91.8)	337.1 (100.6)	0.081
kortizol o (nmol/l)	444.7 (145.1)	286.1 (90.8)	0.107

vrednosti su prikazane kao srednja vrednost (SD); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



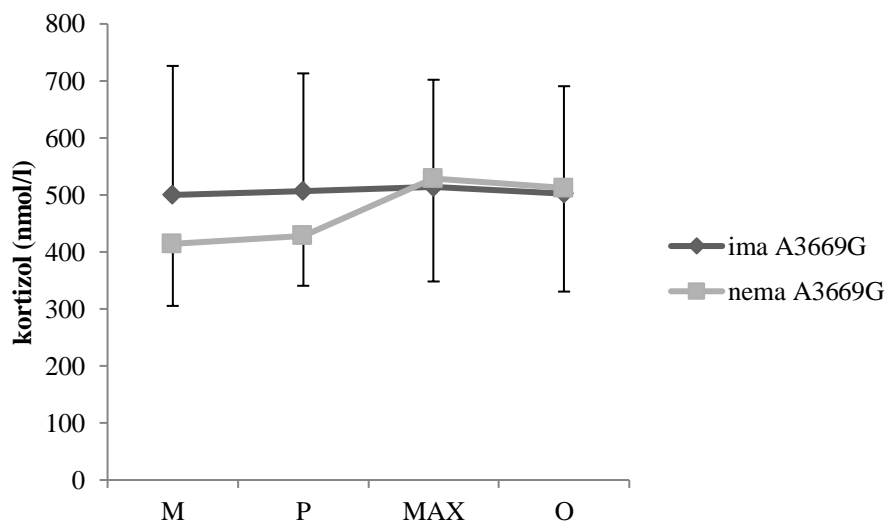
Grafik 28: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja A3669G polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Nije bilo razlike u pojedinačnim vrednostima ACTH kod sportista ($p>0.05$), kao i u načinu odgovora ACTH u testu kod sportista (grafik 29).



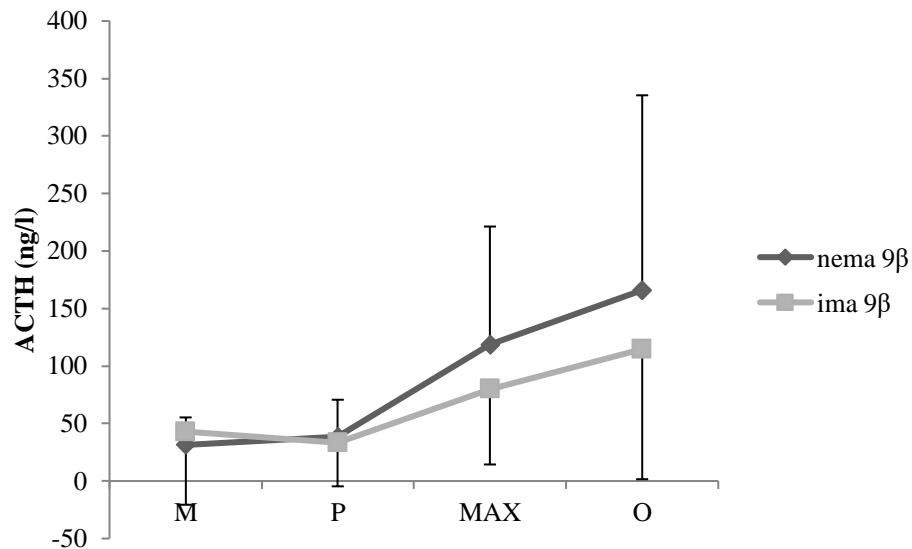
Grafik 29: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja A3669G polimorfizma; M, mirovanje, P, početak testa, MAX, maksimalno opterećenje, O, 3. minut oporavka

Polimorfizam A3669G nije značajno uticao na pojedinačne vrednosti kortizola kod kontrola izloženih stresu ($p > 0.05$ u svim tačkama merenja), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora kortizola tokom testa opterećenja (vreme $F_{1,539} = 2.62$, $p = 0.106$, vremexgrupa $F_{1,539} = 2.05$, $p = 0.159$) (grafik 30).



Grafik 30: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja A3669G polimorfizma. M, mirovanje, P, početak testa, MAX, maksimalno opterećenje, O, 3. minut oporavka

Polimorfizam A3669G nije uticao ni na pojedinačne vrednosti ACTH u testu kod kontrola izloženih stresu ($p > 0.05$ u svim tačkama merenja), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora (vreme $F_{1,360} = 18.02$, $p < 0.001$, vremexgrupa $F_{1,360} = 1.578$, $p = 0.229$) (grafik 31).



Grafik 31: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja A3669G polimorfizma; M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

5.4. UTICAJ -2G/C POLIMORFIZMA GENA ZA MR

Kada se posmatra uticaj -2G/C polimorfizma, odbojkaši su se međusobno značajno razlikovali u vrednostima kortizola na početku testa i tokom maksimalnog opterećenja (Tabela 36).

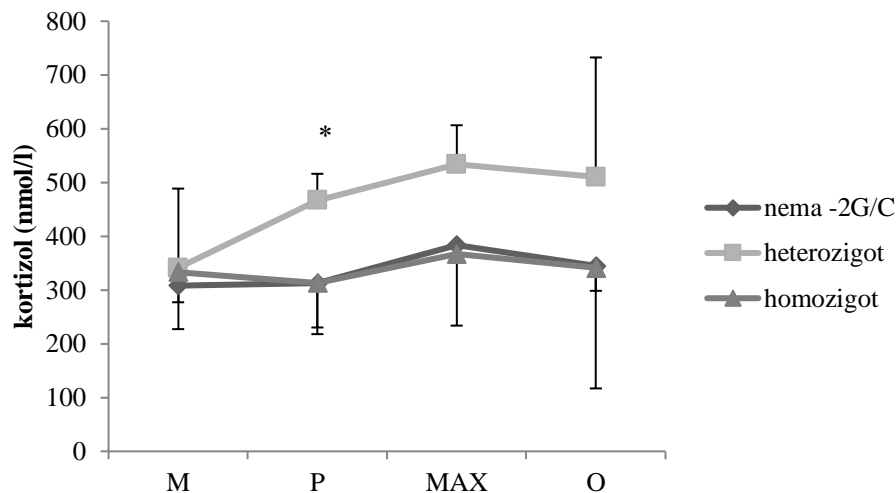
Tabela 36: Vrednosti kortizola kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma

	nema -2G/C	heterozigot	homozigot	p
kortizol m (nmol/l)	308.2 (30.9)	341.2 (147.5)	333.4 (106.1)	0.877
kortizol p (nmol/l)	312.6 (82.2)	466.6 (49.6)	313.1 (95.1)	0.027
kortizol max (nmol/l)	383.5 (29.9)	533.9 (72.6)	367.1 (133.3)	0.035
kortizol o (nmol/l)	344.7 (46.2)	510.0 (222.6)	341.4 (224.4)	0.438

vrednosti su prikazane kao srednja vrednost (SD); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka

Ova značajnost je bila posledica viših vrednosti kod heterozigota u odnosu na homozigote i ispitanike sa *wild type* genotipom

Kada se u celini posmatra odgovor kortizola tokom testa opterećenja, grupe se međusobno nisu značajno razlikovale ($F_{2,822}=1.22$, $p=0.368$), osim između M i P (anticipacija) ($F_2=5.99$, $p=0.047$), tokom kog perioda su heterozigotni nosioci mutacije imeli značajno naglašeniji odgovor (grafik 32).



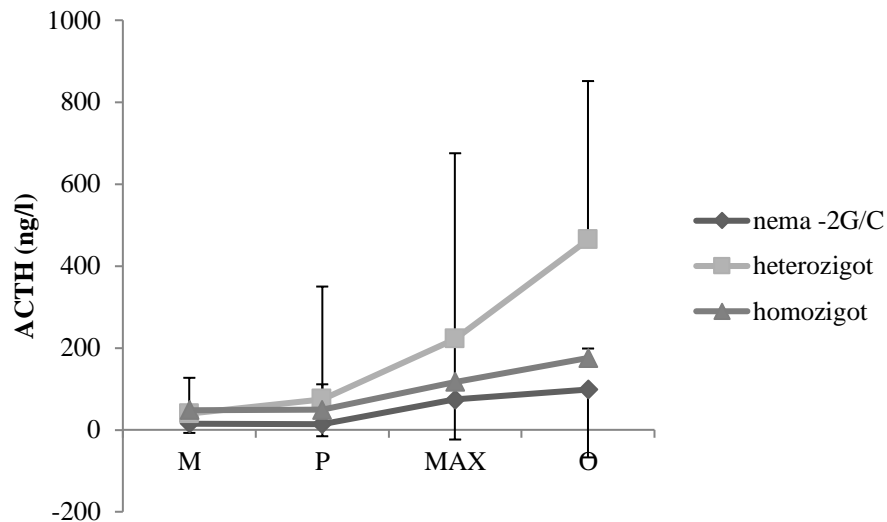
Grafik 32: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka; *, statistička značajnost

Kada je u pitanju ACTH, slično kao i kod kortizola, odbojkaši nosioci polimorfizma (i homozigoti i heterozigoti) imali su više vrednosti ACTH u odnosu na one sa *wild type* genotipom, ali ovo nije dostiglo statističku značajnost ni u jednoj tački testa (tabela 37). Takođe, nije bilo uticaja na način promene vrednosti ACTH tokom testa (vreme $F_{1,824}=19.09$, $p=0.001$, vremexgrupa $F_{1,824}=0.580$, $p=0.671$) (grafik 33).

Tabela 37: Vrednosti ACTH kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma

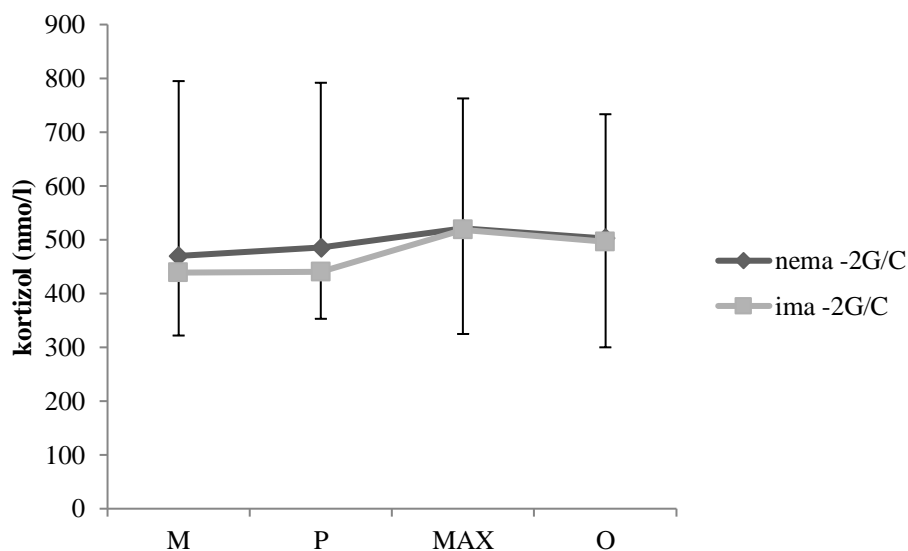
	nema -2G/C	heterozigot	homozigot	p
ACTH m (ng/l)	15.0 (22.5)	39.6 (87.4)	47.8 (69.3)	0.210
ACTH p (ng/l)	13.8 (29.4)	74.5 (275.3)	48.7 (62.5)	0.073
ACTH max (ng/l)	73.6 (97.2)	221.7 (453.6)	116.7 (126.4)	0.418
ACTH o (ng/l)	98.4 (165.7)	463.9 (387.6)	175.4 (23.1)	0.513

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



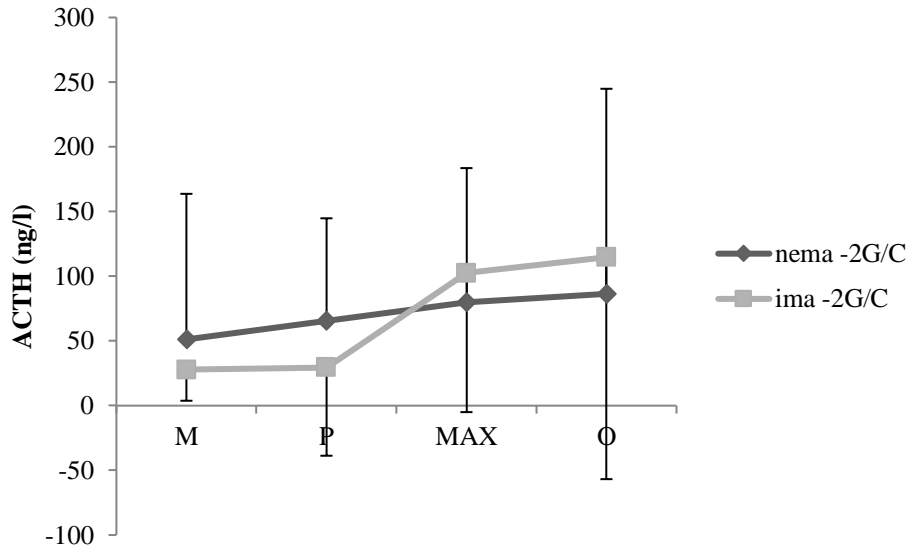
Grafik 33: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Zbog malog broja homozigota za -2G/C SNP u grupi KS, heterozigoti i homozigoti su analizirani zajedno. U grupi KS postojanje -2G/C polimorfizma nije uticalo na dostignute vrednosti kortizola u testu ($p > 0.05$ u svim tačkama merenja), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora kortizola tokom testa opterećenja (vreme $F_{1,401} = 1.343$, $p = 0.276$, vremexgrupa $F_{1,401} = 0.146$, $p = 0.790$) (grafik 34).



Grafik 34: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih psihičkom stresu u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

Slično, nije bilo uticaja -2G/C ni na vrednosti ACTH u grupi KS (sve vrednosti $p > 0.05$), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora tokom ergospirometrije (vreme $F_{1,424} = 6.38$, $p = 0.014$, vremexgrupa $F_{1,424} = 2.157$, $p = 0.155$) (grafik 35).



Grafik 35: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja -2G/C polimorfizma. M, mirovanje, P, početak testa, MAX, maksimalno opterećenje, O, 3. minut oporavka

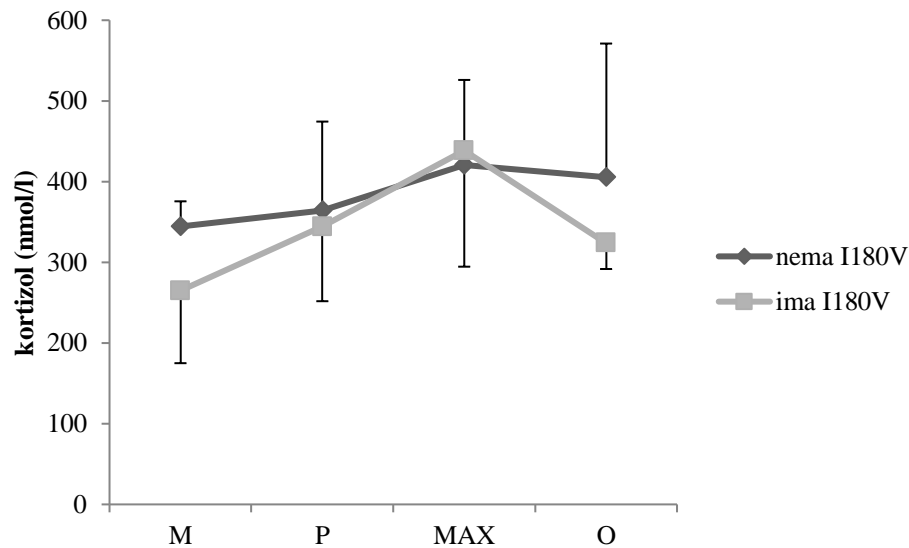
5.5. UTICAJ I180V POLIMORFIZMA GENA ZA MR

Postojanje I180V polimorfizma nije uticalo na pojedinačne vrednosti kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod ispitivanih odbojkaša (tabela 38), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora kortizola tokom testa među grupama ($F_{2,149} = 0.214$, $p = 0.825$) (grafik 36).

Tabela 38: Vrednosti kortizola kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja I180V polimorfizma

	nema I180V	ima I180V	p
kortizol m (nmol/l)	344.4 (91.2)	264.9 (89.9)	0.265
kortizol p (nmol/l)	364.9 (110.0)	344.2 (92.4)	0.761
kortizol max (nmol/l)	420.6 (105.4)	438.5 (143.9)	0.856
kortizol o (nmol/l)	405.7 (165.4)	323.9 (32.2)	0.296

vrednosti su prikazane kao srednja vrednost (SD); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



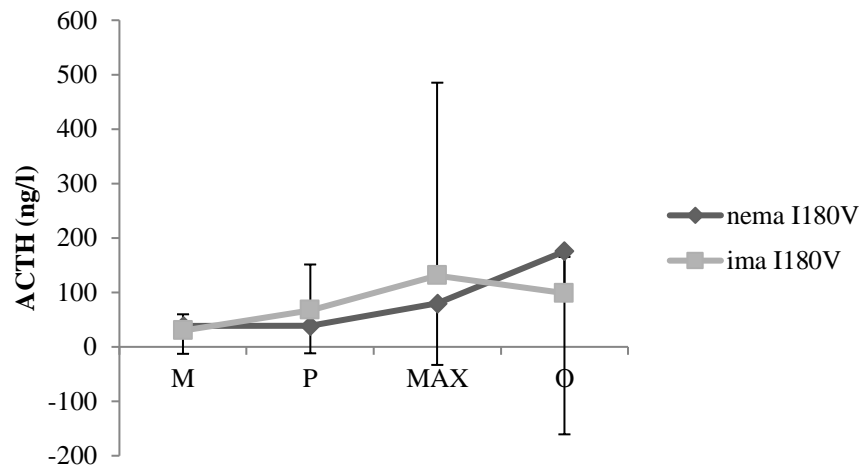
Grafik 36: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja I180V polimorfizma. M, mirovanje, P, početak testa, MAX, maksimalno opterećenje, O, 3. minut oporavka

Slično kortizolu, ni kod pojedinačnih vrednosti ACTH nije detektovan uticaj I180V polimorfizma kod odbojkaša (tabela 39), a nije bilo ni razlike u načinu odgovora ACTH tokom ergospirometrijskog testa (grafik 37).

Tabela 39: Vrednosti ACTH kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja I180V polimorfizma

	nema I180V	ima I180V	p
ACTH m (ng/l)	38.5 (51.3)	29.9 (29.9)	>0.05
ACTH p (ng/l)	38.6 (50.4)	67.2 (84.1)	0.573
ACTH max (ng/l)	79.9 (113.1)	130.8 (354.5)	>0.05
ACTH (ng/l)	175.4 (336.1)	98.4 (66.9)	0.429

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 37: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja I180V polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

S obzirom da je I180V polimorfizam registrovan samo kod jednog ispitanika u grupi kontrola izloženih stresu, nije analiziran njegov uticaj na odgovor hormona HHN osovine u ovoj grupi.

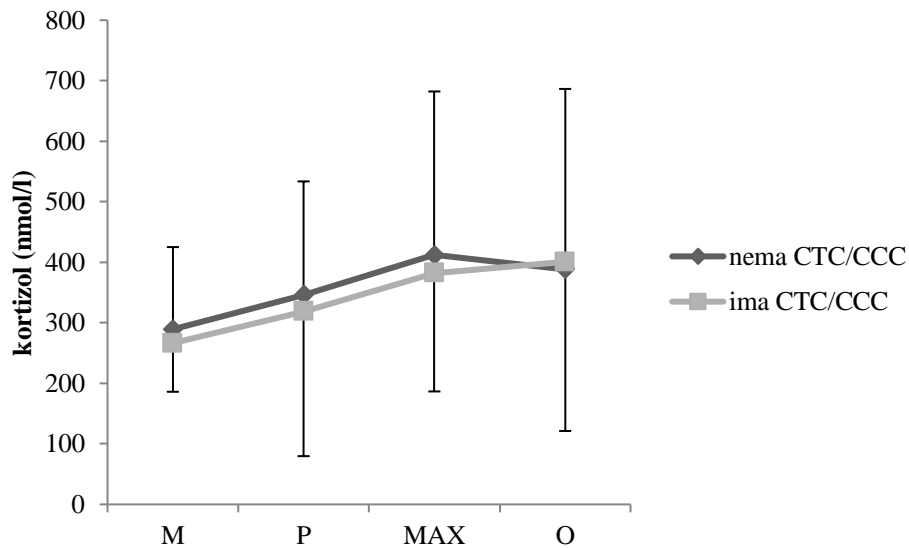
5.6. UTICAJ CTC→CCC POLIMORFIZMA GENA ZA M2CR

Postojanje CTC→CCC polimorfizma nije uticalo na pojedinačne vrednosti kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod ispitivanih sportista (tabela 40), a nije bilo razlike ni u načinu odgovora kortizola tokom testa među grupama ($F_{1,534}=0.328$, $p=0.664$) (grafik 38).

Tabela 40: Vrednosti kortizola kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja CTC→CCC polimorfizma

	nema CTC→CCC	ima CTC→CCC	p
kortizol m (nmol/l)	289.3 (135.9)	266.5 (80.4)	0.951
kortizol p (nmol/l)	346.2 (187.5)	318.8 (239.1)	0.549
kortizol max (nmol/l)	412.4 (269.9)	382.2 (195.6)	0.517
kortizol o (nmol/l)	388.3 (298.2)	400.9 (279.6)	0.941

vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 38: Odgovor kortizola tokom ergospirometrijskog testa kod sportista u zavisnosti od postojanja CTC→CCC polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

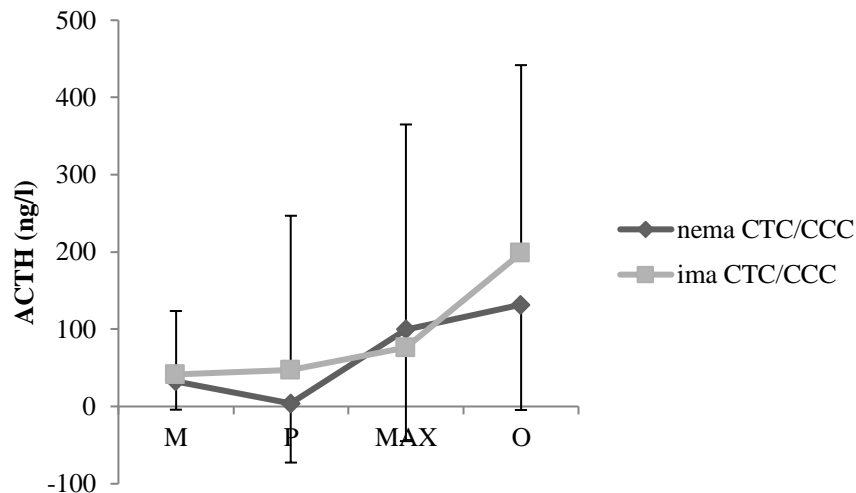
Postojanje CTC→CCC polimorfizma nije uticalo ni na pojedinačne vrednosti ACTH kod ispitivanih sportista (tabela 41), kao ni na način odgovora u testu ($F_{1,534}=0.328$, $p=0.664$) (grafik 39).

S obzirom da je CTC→CCC polimorfizam registrovan kod samo par ispitanika u obe kontrolne grupe (KN i KS), nije analiziran njegov uticaj na odgovor hormona HHN osovine u ovim grupama.

Tabela 41: Vrednosti ACTH kod odbojkaša tokom testa u zavisnosti od postojanja CTC→CCC polimorfizma

	nema CTC→CCC	ima CTC→CCC	p
ACTH m (ng/l)	32.6 (36.7)	41.5 (82.1)	0.833
ACTH p (ng/l)	40.2 (76.6)	47.0 (199.9)	>0.05
ACTH max (ng/l)	99.9 (144.7)	76.3 (288.8)	0.524
ACTH (ng/l)	131.8 (136.3)	198.5 (243.4)	0.788

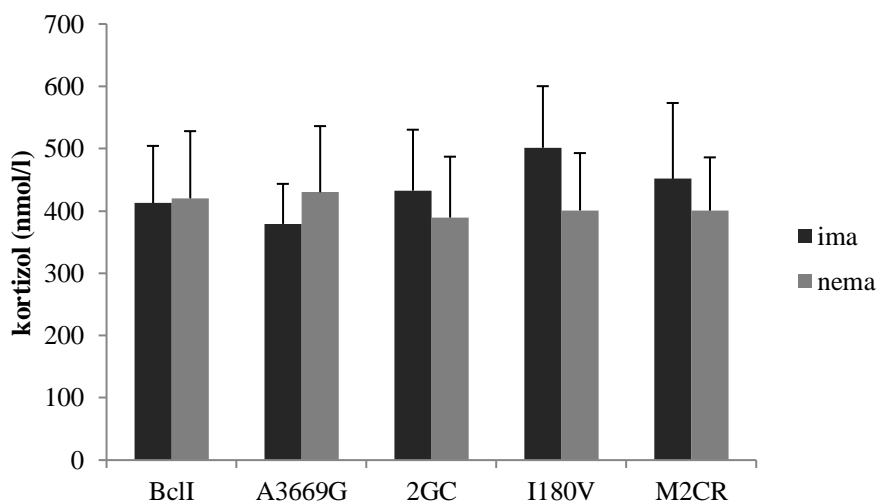
vrednosti su prikazane kao medijana (IQR); m, mirovanje, p, početak testa; max, maksimalno opterećenje, o, 3. minut oporavka



Grafik 39: Odgovor ACTH tokom ergospirometrijskog testa kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja CTC→CCC polimorfizma. M, mirovanje; P, početak testa; MAX, maksimalno opterećenje; O, 3. minut oporavka

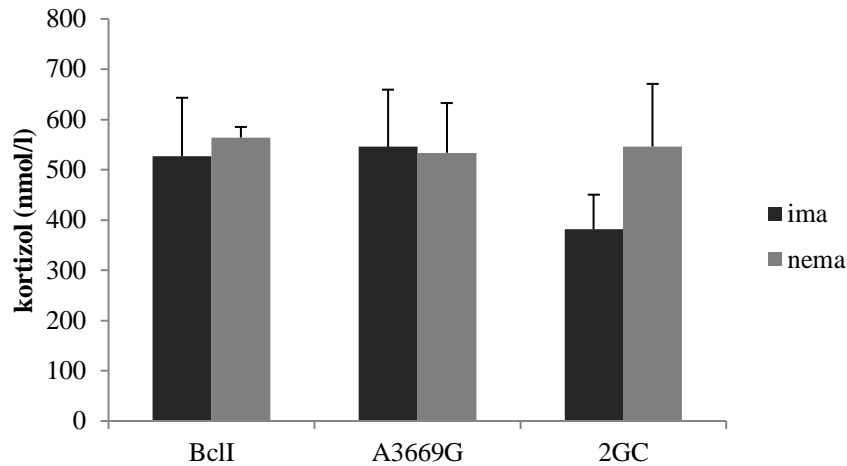
6. UTICAJ GENOTIPA NA JUTARNJE VREDNOSTI KORTIZOLA I ACTH

Svi analizirani polimorfizmi gena za GR, MR i MC2R nisu uticali na vrednosti jutarnjeg kortizola kod sportista ($p > 0.05$ za sve); nije analiziran uticaj N363S s obzirom da su osim jednog heterozigota, svi drugi ispitanici bili WT (grafik 40).



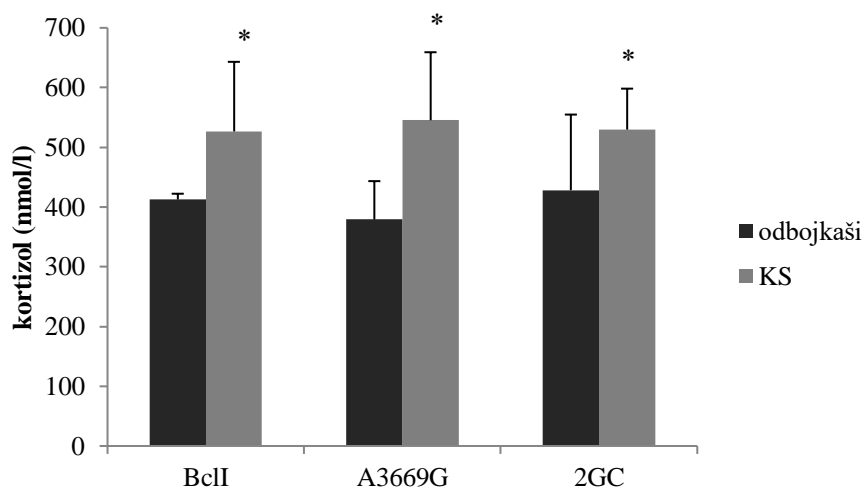
Grafik 40: Vrednosti jutarnjeg kortizola kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR, MR i MC2R

Ni u grupi KS nije registrovan uticaj analiziranih genotipova gena za GR i MR (zbog malog broja registrovanih ispitanika nisu analizirani polimorfizmi N363S gena za GR, I180V gena za MR i SNP promotorskog regiona M2CR gena (grafik 41).



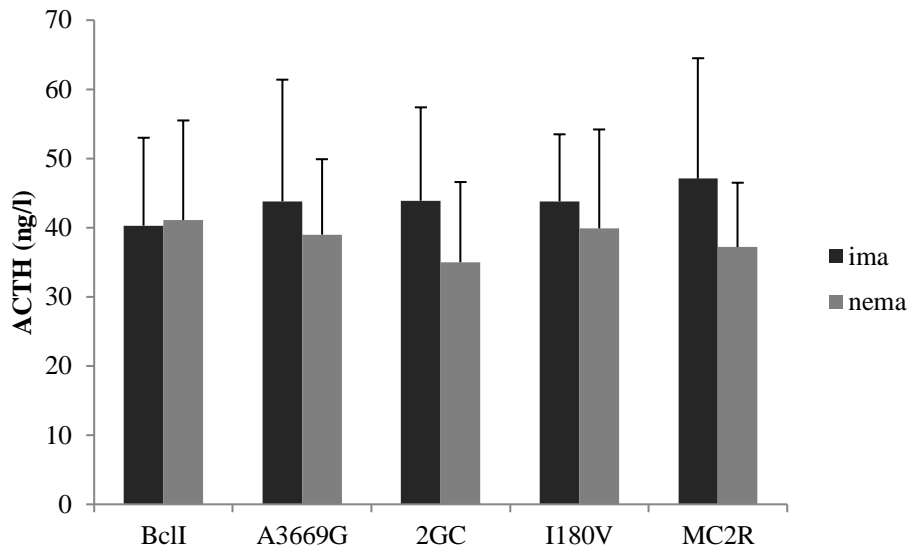
Grafik 41: Vrednosti jutarnjeg kortizola kod kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR; *, statistička značajnost

Kada su analizirani samo nosioci ispitivanih polimorfizama, i međusobno poređeni odbojkaši i kontrole izložene psihičkom stresu, registrovane su statistički značajno niže vrednosti jutarnjeg kortizola kod sportista koji su bili nosioci *BclI* ($p=0.019$), *A3669G* ($p=0.028$) i $-2G/C$ ($p=0.058$) u odnosu na kontrole izložene psihičkom stresu, nosioce istih tih polimorfizama (grafik 42).



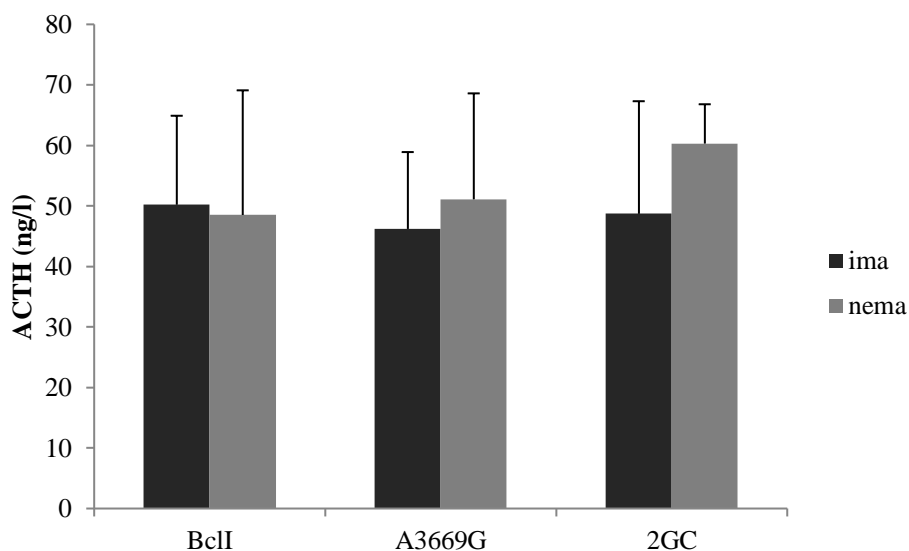
Grafik 42: Vrednosti jutarnjeg kortizola kod odbojkaša i kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR; *, statistička značajnost

Svi analizirani polimorfizmi gena za GR, MR i MC2R nisu uticali na vrednosti jutarnjeg ACTH kod sportista ($p > 0.05$ za sve); nije analiziran uticaj N363S s obzirom da su osim jednog heterozigota, svi drugi ispitanici bili WT (grafik 43).



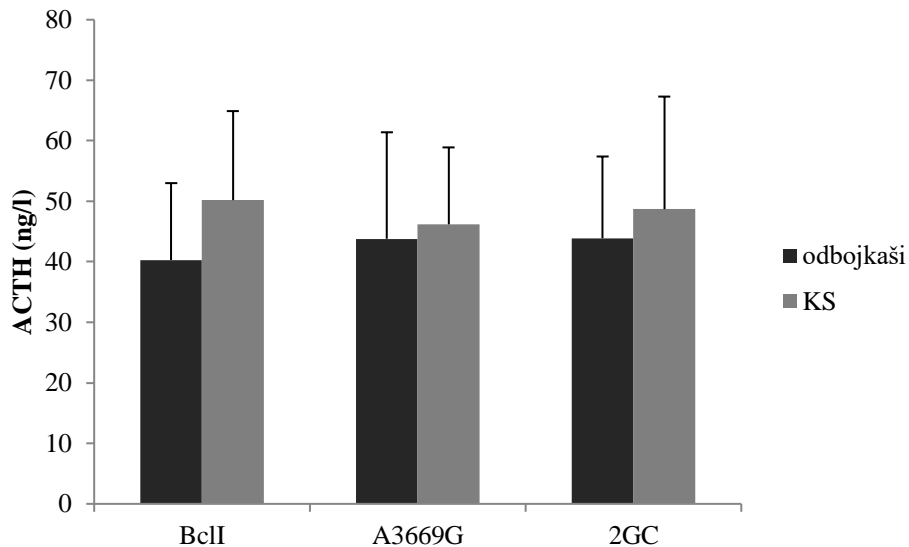
Grafik 43: Vrednosti jutarnjeg ACTH kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR, MR i M2CR

Ni u grupi KS nije registrovan uticaj analiziranih genotipova gena za GR i MR na bazne vrednosti ACTH ($p > 0.05$ za sve) (grafik 44).



Grafik 44: Vrednosti jutarnjeg ACTH kod kontrola izloženih psihičkom stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR

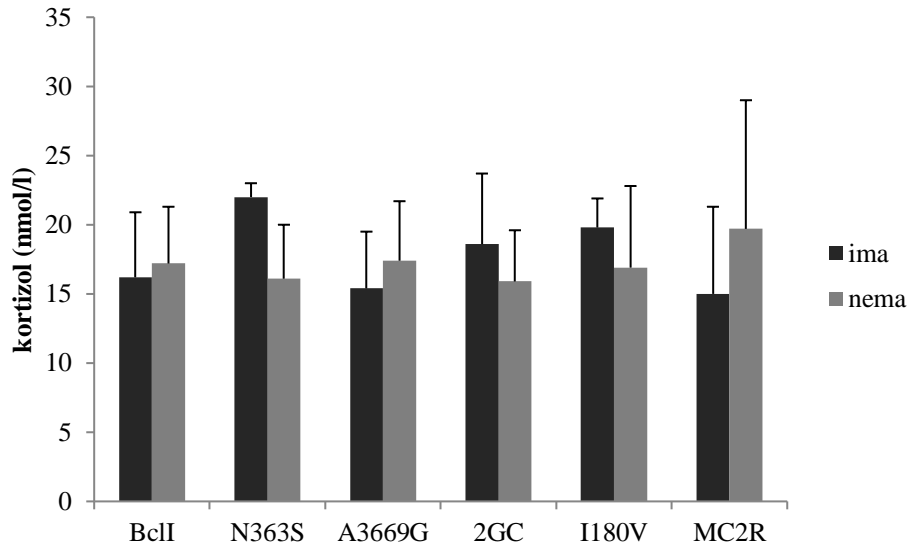
Nasuprot razlikama u vrednosti baznog kortizola, odbojkaši i kontrole izložene psihičkom stresu nosioci specifičnih polimorfizama gena u GR i MR, nisu se međusobno značajno razlikovali u baznim vrednostima ACTH ($p > 0.05$ za sve) (grafik 45).



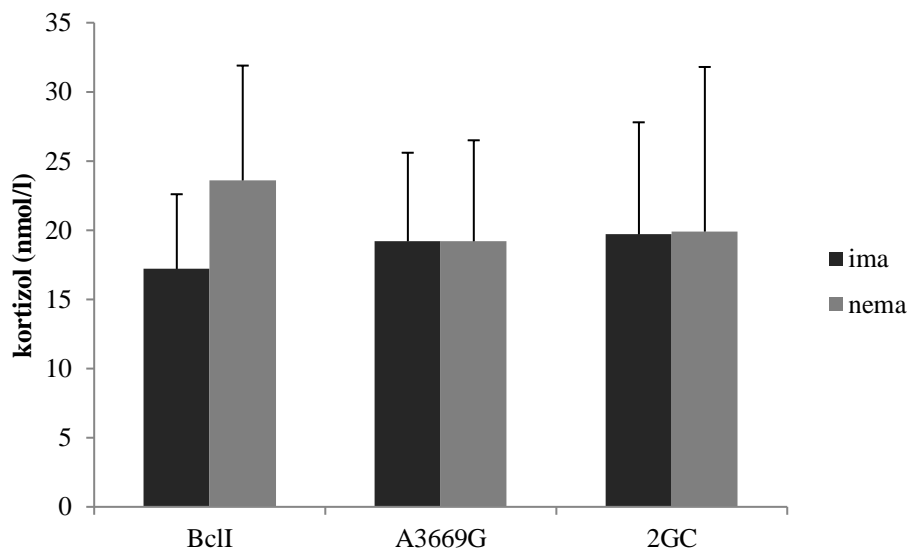
Grafik 45: Vrednosti jutarnjeg kortizola kod odbojkaša i kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR

7. UTICAJ GENOTIPA NA SUPRESIBILNOST KORTIZOLA

Svi analizirani polimorfizmi gena za GR i MR nisu uticali na vrednosti jutarnjeg kortizola nakon prekončne deksametazonske surpesije kod odbojkaša ($p > 0.05$ za sve) (grafik 46). Sličan rezultat je registrovan i kod KS, postojanje specifičnih polimorfizama nije uticalo na supresibilnost kortizola ($p > 0.05$ za sve, nije analiziran efekat N363S polimorfizma gena za GR, I180V polimorfizma gena za MR i CTC→CCC polimorfizma gena za MC2R, s obzirom na mali broj nosilaca ovih polimorfizama u grupi KS) (grafik 47).

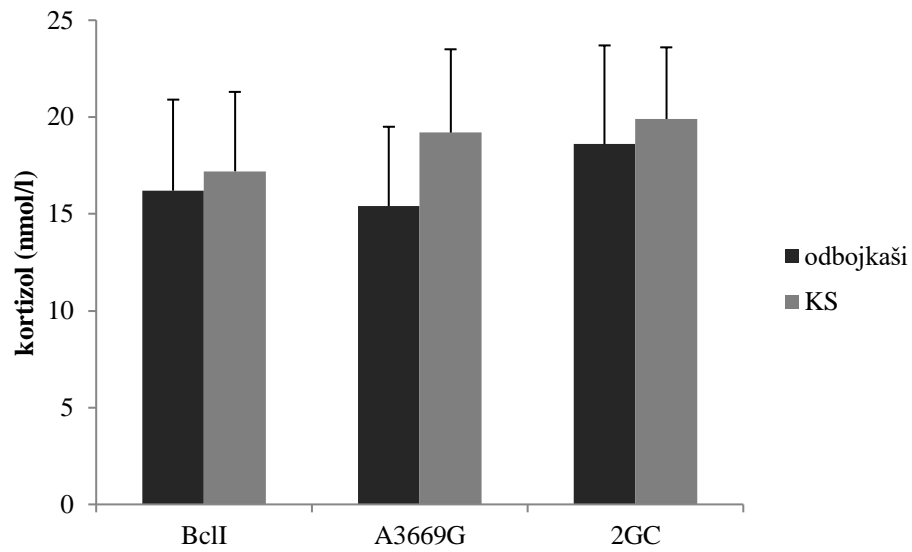


Grafik 46: Vrednosti kortizola nakon deksametazonske supresije kod odbojkaša u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR, MR i M2CR



Grafik 47: Vrednosti kortizola nakon deksametazonske supresije kod kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR

Kada su analizirani samo nosioci ispitivanih polimorfizama, i međusobno poređeni odbojkaši i kontrole izložene psihičkom stresu, nisu registrovane statistički značajne razlike u nivou supresije kortizola u prekononoćnom deksametazonskm supresionom testu sa 1 mg deksametazona (grafik 48).



Grafik 48: Vrednosti jutarnjeg kortizola kod odbojkaša i kontrola izloženih stresu u zavisnosti od postojanja različitih polimorfizama gena za GR i MR

V DISKUSIJA

Naši rezultati potvrđuju prethodnu tezu da izloženost fizičkom stresu koji je dovoljno velikog intenziteta ili dovoljne dužine trajanja, uspešno aktivira HHN osovину kod svih osoba nezavisno od nivoa utreniranosti. Međutim, i bazna i stresom provocirana aktivnost HHN osovine značajno su zavisili od utreniranosti i metaboličkih aspekata profesionalnog bavljenja sportom, što smo pojedinačno analizirali. Dodatno, pokazali smo da i aktuelna izloženost psihičkom stresu kod osoba koje su sedentarne značajno utiče na odgovor HHN osovine na fizički stres.

Analizirali smo tri različite vrste sportista koji su se razlikovali u stepenu zastupljenosti dinamičke i statičke komponente (D3S2-vaterpolisti, D2S3-rvači i D2S1 - odbojkaši) [143]. Rutina treninga kao i sami zahtevi sporta, značajno se razlikuju kod ove tri grupe sportista. Međutim u akutnom fizičkom opterećenju, pojedinačne vrednosti kortizola kao i način odgovora kortizola tokom testa bili su slični. Iako se radilo o različitim disciplinama, ispitivani sportisti su imali više zajedničkih osobina: 1) svi ispitivani sportisti su bili takmičari na najvišem nacionalnom nivou, 2) svi su ispitivani u periodu intenzivnog treniranja (period pred takmičenje), 3) svi su ispitivani u identičnom periodu dana, koji je blisko odgovarao periodu kada su ispitanici uobičajeno trenirali. Naši rezultati ukazuju da način reakcije HHN osovine na akutni fizički stres kod sportista, bar kada je u pitanju trening izdržljivosti, ne zavisi od vrste sporta. Međutim, po svemu sudeći ulogu imaju drugi faktori koji utiču i na bazni nivo aktivnosti HHN osovine, i na njenu aktivaciju u stresu (komentari u narednim segmentima diskusije). Mišljenja smo da je u svakoj studiji na sportistima neophodno precizno definisati i istaći uslove pod kojima se studija sprovodi. Takođe, ukoliko se ispitanici testiraju pod različitim okolnostima (naročito ukoliko se testiraju u različitim periodima sportske sezone ili u različitim periodima dana), u analizi podataka je potrebno kontrolisati ove faktore. U dostupnoj literaturi nismo pronašli studije koje su međusobno poredile odgovor HHN osovine kod različitih vrsta sportista.

Kada su u pitanju bazne vrednosti kortizola (pred test), različite studije su prijavljivale različite nivoe kod sportista, od nižih, preko sličnih, do povišenih u poređenju sa sedentarnim ispitanicima [145]. Naši sportisti su imali značajno više bazne

vrednosti kortizola u odnosu na sedentarne kontrole neizložene stresu, i za ovo postoji nekoliko objašnjenja.

Pokazano je da ritam treniranja profesionalnih sportista, manje ili više fiksiran za određeni deo (delove) dana, utiče na normalni cirkadijalni ritam sekrecije kortizola, dovodeći do faznog pomeraja u aktivnosti HHN osovine [146]. Cirkadijalni ritam sekrecije je dominantno uslovljen dnevnim svetlom, ali pokazane su razne manipulacije koje omogućavaju očuvanost ovih ritmova i u okolnostima kontinuiranog mraka (rigorazan ritam spavanja, obroka i dnevnih aktivnosti). Naš rezultat je u skladu sa studijama koje su sprovedene kasnije tokom dana [83,147], a doba dana tokom koga je sprovedena naša studija je bilo blisko tipičnom periodu dana tokom koga su sportisti uobičajeno trenirali.

Povišene bazne vrednosti nivoa kortizola su pokazane kod sportista koji su očekivali početak takmičenja [148]. Slično je pokazano u studiji koja je ispitivala mlade džudiste 1h 30 min pred početak takmičenja, a u komparaciji sa vrednostima kortizola i anksioznosti tokom cele sezone: nivo kortizola je bio značajno veći pred takmičenje u odnosu na sve ostale vrednosti; dodatno, ove vrednosti nisu bile u korelaciji sa skorovima anksioznosti, što ukazuje na povezanost neuroendokrinog odgovora na takmičenje sa kognitivnom procenom [149]. Ovakvi rezultati su uočeni i u padobranstvu, ekstremnom sportu koji je konzistentno udružen sa životno ugrožavajućim situacijama: iskusniji skakači su imali više vrednosti kortizola pred skok u odnosu na one koji skaču prvi put, dok je nivo anksioznosti bio sličan [150]. Jedna studija je pratila klizače od perioda pred takmičenja, preko nacionalnog takmičenja, Evropskog takmičenja i konačno do Zimskih olimpijskih igara; registrovan je progresivni porast nivoa kortizola kako je rastao internacionalni značaj takmičenja [151].

Konačno, uvek treba imati na umu da hronična hiperkortizolemija ne mora biti indukovana samim stresom vežbanja, već hroničnim deficitom energije (negativnim energetske balansom), koji se viđa tokom produženih perioda fizičkog napora, a naročito kod stanja pretreniranosti (*overreaching/overtraining*) [152]. Imajući ovo u vidu, važno je da li su sportisti testirani tokom perioda pred takmičenja, tokom samog perioda takmičenja, ili u periodu nevezano za takmičenja tokom sportske sezone.

Akutni fizički stres je aktivirao HHN osovinu u svim grupama naših ispitanika. Prethodno je pokazano da je kod vežbanja izdržljivosti (*endurance*) minimum

intenziteta vežbanja potreban kako bi došlo do odgovora kortizola oko 60% VO₂max [56,153]. Ovaj prag je nezavisan od nivoa utreniranosti, a nakon njegovog dostizanja nivo kortizola raste linearno sa intenzitetom vežbanja. Takođe je demonstrirano da je akutni odgovor kortizola proporcionalan relativnom radnom opterećenju [154]. Kratkotrajno vežbanje visokog intenziteta dovodi do većeg skoka vrednosti kortizola nego prolongirano opterećenje pri submaksimalnom opterećenju, ali do manjeg skoka nego vežbanje gradirano do iscrpljenja [155]. U prilog ove činjenice govori i podatak o dokazanoj značajnoj korelaciji između serumskih nivoa kortizola i laktata [145]. Generalno, statičko vežbanje, karakterisano većim stepenom anaerobnog metabolizma, dovodi do većeg odgovora kortizola u odnosu na aerobno [156].

Hronično visoke koncentracije kortizola imaju mnoga nepovoljna dejstva na organizam, ali akutni skokovi tokom stresa su od izuzetne važnosti za metaboličku adaptaciju, kardiovaskularni odgovor i remodelovanje mišićnog tkiva. Kortizol povećava dostupnost metaboličkih supstrata potrebnih da zadovolje energetske potrebe aktivnih mišića; kortizol održava normalan vaskularni integritet i responsivnost tokom vežbanja; i na kraju, ali ne i najmanje važno, kortizol sprečava prekomernu aktivaciju imunskog sistema u svetlu ponavljanih oštećenja mišića nastalih tokom vežbanja [23]. Imajući ovo u vidu, čini se da bi potreban biološki efekat kortizola tokom fizičkog opterećenja mogao biti primarni pokretač maksimalnog nivoa kortizola.

S tim u vezi, osobe različitog statusa utreniranosti odgovaraju slično na sličan intenzitet vežbanja, a u smislu maksimalnog nivoa kortizola [56,157,158]. S druge strane, naglašeniji odgovor kortizola na isti nivo intenziteta vežbanja je registrovan kod profesionalnih sportista koji se aktuelno takmiče, u poređenju sa sportistima koji nisu u takmičenju [159]. Progresivno rastuće bazalne vrednosti kortizola su registrovane kod elitnih veslača tokom 24-voronedelnog perioda priprema, a što ukazuje na okruženje visokog nivoa katabolizma, koji je esencijalno oruđe za adaptaciju na situaciju visokog stresa [160].

Interesantna je opservacija da bi povećan odgovor kortizola na vežbanje koje je sprovedeno popodne mogao biti posledica diurnalnih varijacija statusa glikogena kod ljudi, sa pikom vrednosti ujutru, a najnižim vrednostima uveče [161,162]. Vežbanje u jutarnjim časovima je značajno nepovoljno uticalo na sposobnost organizma da održi euglikemiju tokom vežbanja koje je sprovedeno kasnije tokom istog dana [163].

Konačno, smatra se da bi neadekvatan odgovor kortizola tokom vežbanja mogao biti jedan od ranih znakova pretreniranosti (*overreaching/overtraining*). Nasuprot tome, adekvatan odgovor kortizola na izazov, kao i visoke vrednosti bazalnog kortizola, ukazuju na visoku aktivnost procesa adaptacije [164]. Naši rezultati demonstriraju adekvatnu plastičnost HHN osovine u našoj grupi sportista.

Prethodno navedeni mehanizmi su potencijalno odgovorni za registrovane značajno više vrednosti kortizola kod naše grupe sportista u odnosu na sedentarne ispitanike koji prethodno nisu bili izloženi stresu. Značajnost razlike u vrednostima se održavala sve do kraja optećenja. Međutim, sa višim baznim vrednostima kortizola, sportisti su zapravo imali potrebu za manjim dodatnim skokom kortizola u odnosu na kontrole kako bi dostigli ciljni pik vrednosti kortizola, a koji je potreban za adekvatan biološki efekat kortizola tokom stresne situacije. Isto je demonstrirano i značajno manjim procentom promene vrednosti kortizola kod sportista u odnosu na kontrole. Zapravo, stepen hronične izloženosti stresu vežbanja je jedan od najpotentnijih faktora koji utiču na neuroendokrini stresni odgovor tokom akutnog vežbanja [156]. Ovakva adaptacija neuroendokrinog sistema na ponavljano fizičko vežbanje ne postoji samo na nivou HHN osovine, već i na nivou odgovora simpatikusa [164].

Nasuprot razlici u odnosu na kontrole neizložene stresu, kontrolni ispitanici koji su bili izloženi hroničnom psihičkom stresu imali su više vrednosti kortizola u odnosu na sportiste. Ova razlika je bila statistički značajna u mirovanju (bazalna vrednost pred test), a značajnost se izgubila počev od anticipatornih vrednosti (neposredno pred početak testa), do vrednosti u maksimalnom opterećenju. Istom je doprineo atenuisan odgovor kortizola na fizički stres kod ove grupe kontrolnih ispitanika.

Studija koja je pratila španske diplomirane studente medicine u periodu testiranja za dobijanje specijalizacije pokazala je više vrednosti CAR i višu vrednost kortizola pred početak testa u danima kada su testirani, u odnosu na period početka priprema i nakon završetka perioda testiranja [165]. Slično, viši CAR je demonstriran kod starijih osoba u danima nakon stresnih događaja ili neprijatnih osećanja [166]. Međutim, u još jednoj studij koja je ispitivala mlađe zdrave osobe, postdiplomce pred prijemni ispit, registrovala je niži CAR u odnosu na kontrole neizložene stresu u danima priprema za ispit; nisu praćene vrednosti pred sam ispit [167].

Više studija je demonstriralo da hronično treniranje ima povoljan uticaj na reakciju na druge vrste stresora, tačnije da redovno fizičko vežbanje pomaže u sniženju

stresnog odgovora na različite druge životne stresore [168]. Atenuisan odgovor kortizola na psihički stresor je demonstriran kod žena koje su bile fizički aktivne u odnosu na one koje su bile sedentarne [169]. Uvođenje regularne fizičke aktivnosti kod prethodno sedentarnih muškaraca dovelo je do atenuisanog odgovora na psihosocijalne stresore [170]. Dodatno je važno da nastanak atenuisanog odgovora na psihosocijalne stresore nije ekskluzivno vezan za visoko utrenirane osobe, već je pokazan i kod ispitanika koji su umereno trenirali [171].

Ovaj koncept je u skladu sa opservacijama da osobe hronično izložene jednoj vrsti stresora mogu imati atenuisan odgovor na drugačiji, heterotipski stres, pod uslovom da on nije (životno) ugrožavajući. Razlika u neuroendokrinom odgovoru sama po sebi zavisi od vrste stresora i načina na koji se percipira kao ugrožavajući ili ne [172]. S tim u vezi je očekivan i atenuisan odgovor na fizički stres kod osoba prethodno hronično izloženih psihičkom stresu, s obzirom da se fizički stres načelno ne smatra ugrožavajućim. Ovakva vrsta habituacije ima izuzetan evolutivni značaj, jer snižavanjem odgovora na stresore koji nisu životno ugrožavajući omogućava konzerviranje energije i resursa [80].

Pored neuroendokrine adaptacije, obe grupe ispitanika izloženih stresu (sportisti i kontrole izložene psihičkom stresu) demonstrirale su elemente metaboličke adaptacije, manifestovane povećanom potrošnjom kiseonika u bazalnim okolnostima i tokom oporavka; maksimalna potrošnja kiseonika, kao mera utreniranosti, očekivano je bila viša kod sportista u odnosu na obe grupe kontrola. Ovo nije neočekivano imajući u vidu prethodno demonstrirane efekte vežbanja na potrošnju kiseonika, ali i efekte drugih vrsta stresa (trauma, inflamacija, sepsa, šok) ali i stanja kao što su anksioznost, agitacija, bol [173,174]. Međutim, nismo registroval korelaciju između vrednost kortizola i nivoa potrošnje kiseonika u različitim tačkama testa, što ukazuje da se metabolička i neuroendokrina adaptacija dešavaju nevezano. S druge strane, korelacija je postojala sa srčanom frekvencom, koja je tokom anticipacije značajno predviđala vrednosti kortizola tokom testa.

Iako je opservirani period oporavka bio relativno kratak, primetili smo da su nivoi kortizola postepeno počeli da padaju kod sportista, dok su još uvek rasli kod kontrola. Potrebno je oko 120-150 minuta da bi se nivo kortizola normalizovao posle vežbanja, ali nekoliko studija je potvrdilo da nema razlike u vrednostima 24h-ovnog urinarnog slobodnog kortizola između profesionalnih sportista koji se bave sportovima

izdržljivosti i kontrola [86,175]. Još uvek nema dovoljno podataka koji bi jasno demonstrirali nivo/način kompenzacije za privremeni porast nivoa kortizola. Moguća objašnjenja uključuju supresiju noćne sekrecije kortizola [176], uz stepen supresije koji je naglašeniji nakon vežbanja većeg intenziteta [85]. Druga mogućnost je da postoji povećan stepen konverzije kortizola u inaktivni kortizon [86]. Dodatno, izgleda da zaštita od hiperkortizolemije prouzrokovane vežbanjem možda postoji na nivou perifernih tkiva, a postiže se putem izmene periferne osetljivosti na glukokortikoide nakon vežbanja [177]. Ekspresija α forme (aktivne forme) glukokortikoidnog receptora ($GR\alpha$) je bila značajno snižena na mononuklearima periferne krvi kod profesionalnih plivača u odnosu na sedentarne kontrole, pri čemu je nivo ekspresije direktno korelisao sa stepenom utreniranosti, dok se bazne vrednosti kortizola nisu razlikovale među grupama [113].

Kada je u pitanju celokupan odgovor HHN osovine, nasuprot razlici u odgovorima kortizola, sportisti su imali sličan odgovor ACTH u poređenju sa sedentarnim kontrolama neizloženim stresu. Dodatno, za sličan nivo ACTH, sportisti su u poređenju sa kontrolama koje nisu bile izložene stresu imali značajno viši nivo kortizola. Takođe, dok su odgovori ACTH i kortizola bili sinhroni kod kontrolnih ispitanika, oni su tokom oporavka bili različiti kod sportista (vrednosti kortizola su počele da padaju, dok su vrednosti ACTH i dalje rasle).

Do sada je ponuđeno više teza koje pokušavaju da objasne ovu razliku. Jedna od njih je da ponavljani fizički stres profesionalnih sportista dovodi do smanjenja osetljivosti HHN osovine na negativnu povratnu spregu od strane glukokortikoida. U studiji koja je ispitivala 9 muškaraca koji su se bavili sportom izdržljivosti visokog intenziteta 3 od 9 sportista je odreagovalo porastom kortizola na stimulaciju sa CRH a nakon deksametazonske supresije (deksametazon-CRH test), dok ovakav odgovor nije zabeležen kod kontrolnih ispitanika [178]. U studiji koja je ispitivala 4 maratonca, area ispod krive (AUC – *area under the curve*) za ACTH je tokom oporavka bila veća kod maratonaca u poređenju sa sedentarnim ispitanicima, dok se obe grupe nisu razlikovale u vrednostima kortizola [179]. Zaključeno je da ovakav rezultat može biti objašnjen sniženom osetljivošću HHN osovine na negativnu povratnu spregu kortizola, i/ili smanjenom osetljivošću nadbubrežne kore na stimulaciju od strane ACTH. Sličan rezultat je registrovan kod 6 ultramaratonaca, kod kojih su registrovane značajno više vrednosti ACTH dok su vrednosti kortizola bile slične u odnosu na sedentarne ispitanike

(i plazma kortizol i slobodni urinarni kortizol tokom 24h) [180]. S obzirom da fizički trening nema značajan uticaj na nivo kortizol vezujućeg globulina (CBG – *cortisol binding globulin*), kao ni na klirens kortizola, zaključeno je da ovakav nalaz govori u prilog snižene osetljivosti nadbubrežnih žlezdi na ACTH. Međutim u studiji Minetto i saradnici nije bilo razlike između stepena i načina promene kortizola i ACTH tokom 120 minuta oporavka, pri čemu su uzorci semplovani neposredno nakon, i 7, 15, 30, 45, 60, 90 i 120 minuta nakon završetka opterećenja [147].

U našoj studiji je registrovan potpuno suprotan rezultat: za slične vrednosti ACTH, postojala je razlika u vrednostima kortizola. Slični rezultati su dobijeni u eksperimentima na pacovima. Izloženost fizičkom vežbanju (dobrovoljno trčanje na pokretnom valjku) je dovela do povećane sekrecije kortikosterona u odnosu na pacove koji su bili sedentarni, pri čemu se dve grupe životinja nisu razlikovale u vrednostima ACTH [181]. Izneta je pretpostavka da ključni regulatorni mehanizmi postoje na nivou nadbubrega. Slično, u drugom eksperimentu, inicijalni odgovor fizički aktivnih životinja je bio praćen porastom ekspresije steroidogenog regulatornog proteina u kori nadbubrežnih žlezda, rezultujući u naglašenijem odgovoru kortikosterona na stimulaciju od strane ACTH kod fizički aktivnih, u odnosu na neaktivne životinje [182]. Međutim, nakon dužeg perioda praćenja (8 nedelja naspram 2), ova razlika se izgubila.

Diferencijalni odgovor kortizola u kontekstu sličnih vrednosti ACTH je posmatran i kao efekat stimulacije drugih modulišućih supstanci kao što je AVP (arginin vazopresin), a koji je pod minimalnim uticajem negativne povratne sprege od strane kortizola [183]. Sekrecija ACTH je pod permisivnom ulogom CRH, dok AVP i drugi faktori (kao što je npr. angiotenzin II) imaju sinergističke ili aditivne efekte.

Takođe, sve je više dokaza o ulozi simpatikusne inervacije kore nadbubrežnih žlezda [184]. Takođe, simpatikusna aktivnost adrenalne medule je pozitivni modulator adrenokortikalne senzitivnosti na ACTH [185]. Simpatikusni uticaji se izgleda primarno odnose na bazalni cirkadijalnu sekreciju glukokortikoida, ali senzitivizovani odgovori nakon prethodne izloženosti stresu su neophodni za izazivanje brzog odgovora glukokortikoida na sledstveni stressor [175, 186]. Drugim rečima, povećana adrenokortikalna responsivnost na ACTH može biti uzrokovana pojačanom simpatikusnom (simpatikomedularnom) aktivnošću. Pokazano je da simpatički nervni sistem doprinosi većoj produkciji kortikosterona kod utreniranih životinja u odnosu na

kontrole [186]. Istovremeno, izgleda da doživljaj stresa na nivou centralnog nervnog sistema ne zavisi od nivoa utreniranosti.

U analizi adaptacija HHN osovine treba voditi računa i o uticaju hroničnog fizičkog opterećenja na gensku ekspresiju. Park i saradnici sun a životinjskom modelu pokazali smanjenje nivoa transkripcije gena za GR na nivou paraventrikularnog nukleusa (PVN) i hipofize [187]. Ovaj fenomen je nakon inicijalne faze adaptacije rezultirao porastom u bazalnoj, nestimulisanoj hipofizno-nadbubrežnoj aktivnosti. Kod aktivnih sportista je dokazana smanjena ekspresija GR i GR-iRNK u ćelijama mononukleara periferne krvi u odnosu na sedentarnu kontrolu [113,188]. Ovakva nishodna regulacija se smatra posledicom česte i prolongirane izloženosti akutnim skokovima kortizola tokom treniranja. Interindividualne varijacije glukokortikoidne senzitivnosti se mogu pripisati polimorfizmima gena za GR.

Kao dodatak na već rečeno kada su u pitanju bazne vrednosti kortizola kod sportista, praćenjem 24h-ovne dinamike promene vrednosti kortizola i ACTH zaključeno je da pik sekrecije ova dva hormona kod profesionalnih sportista nastupa ranije u odnosu na sedentarne osobe [180]. Ova činjenica bi mogla imati uticaja na interpretaciju eventualnih razlika u registrovanim baznim vrednostima kortizola, s obzirom da je vreme uzorkovanja krvi za bazne analize standardizovano prema opštoj populaciji.

Tokom poslednje dekade, akumuliralo se sve više dokaza koji ukazuju da se HHN osovina profesionalnih sportista ponaša uobičajeno (bez razlike u odnosu na sedentarne ispitanike uparene prema polu i godinama) kada su sportisti van treninga. Međutim, na kraju sezone treniranja, registrovane su snižene vrednosti kortizola nakon buđenja (CAR – *cortisol awakening response*), slične vrednosti prekononoćnog slobodnog urinarnog kortizola ali značajno više vrednosti slobodnog urinarnog kortizona, što govori u prilog pojačane inaktivacije kortizola u neaktivni kortizon kod visoko utreniranih osoba [189]. Nivo kortizola nakon buđenja (CAR) je bio u značajnoj negativnoj korelaciji sa stepenom fizičkog opterećenja [190]. Takođe, pik vrednosti CAR je registrovan tokom dana kada je takmičenje, u odnosu na dane pripreme pred takmičenje i u danima neposredno nakon takmičenja [191]. S druge strane, zdrave, fizički aktivne osobe imale su značajno više vrednosti CAR od sportista sa sindromom prekomerne utreniranosti (OTS) i zdravih, fizički neaktivnih osoba [192]. I sistemska analiza literature pokazuje određene nekonzistentnosti u vrednostima CAR kod

sportista, i po svemu sudeći CAR reprezentuje kombinaciju prethodne utreniranosti i nadolazećeg stresa, što sve treba uzeti u obzir prilikom interpretacije rezultata [193].

Studija koja je pratila prekonocnu aktivnost HHN osovine potvrdila je supresiju sekrecije kortizola tokom noći kojoj je prethodio dan intenzivnog vežbanja [85]. Tokom noći nakon vežbanja registrovana je i izmena u odnosu na normalnu fiziološku dinamiku koja favorizuje anabolički milje tokom spavanja: registrovano je da je sekrecija kortizola viša tokom prve polovine noći a niža tokom druge [176]. Zanimljivo je i to da su ovi zaključci po svemu sudeći vezani samo za sportove izdržljivosti, dok vežbanje snage nema dugoročni efekat na sekreciju kortizola, niti dovodi do supresije noćne sekrecije kortizola [88].

S druge strane, uz manje nedoslednosti, povišene vrednosti CAR ili jutarnjeg kortizola demonstrirane su kod različitih vrsta anksioznih poremećaja [194,195]. Slični rezultati su demonstrirani kod osoba sa major depresivnim poremećajem [196]. Nasuprot njima, pacijenti sa paničnim poremećajem, i posttraumatskim stresnim poremećajem (PTSD) imaju niže bazne vrednosti kortizola [197, 198].

Imajući u vidu sve prethodno navedeno, i imajući u vidu naše rezultate prema kojima su profesionalni sportisti imali značajno niže jutarnje vrednosti kortizola od kontrolnih ispitanika prethodno izloženih psihičkom stresu, može se zaključiti da je vrsta stresa presudna u načinu adaptacije HHN osovine, što se između ostalog odražava i na vrednost jutarnjeg kortizola i CAR. Dodatno, više vrednosti CAR kod osoba u remisiji major depresivnog poremećaja prediktuju recidiv bolesti [199].

Nismo registrovali razliku u vrednostima jutarnjeg kortizola nakon prekonocne deksametazonske supresije između profesionalnih sportista i kontrola izloženih psihičkom stresu.

Prethodno, nije registrovana razlika između visoko utreniranih profesionalnih sportista i sedentarnih kontrola [178]. Takođe, razlika nije demonstrirana ni kod starijih trkača dugih pruga u odnosu na sedentarne kontrole uparene prema godinama [200]. Nasuprot tome, postoji statistički značajno veća supresija u kod pacijenata sa PTSD, pacijenata sa PTSD i pridruženom major depresijom, kao i kod osoba koje su bile izložene trauma ali nisu razvile PTSD, u poređenju sa netraumatizovanom kontrolnom grupom [198]. Ipak, ima dokaza da je veća postdeksametazonska supresija prediktor boljeg odgovora na lečenje kod pacijenata sa PTSD [201].

Uz ograničenje da su analize rađene na relativno malom broju ispitanika, pokazali smo da specifični polimorfizmi u genima za GR, MR i M2CR imaju određeni uticaj na akutni odgovor HHN osovine na fizički stres u grupi sportista, ali ne i kod sedentarnih ispitanika, nevezano za to da li su prethodno bili izloženi stresu ili ne.

Sportisti kod kojih je postojao *BclI* polimorfizam su dostigli značajno niže vrednosti kortizola u maksimalnom opterećenju, a i sam način odgovora je bio različit, statistički značajno drugačiji (atenuisan) samo kod vaterpolista. Sportisti sa *N363S* polimorfizmom imali su više vrednosti kortizola ali ova razlika nije bila značajna; međutim, u ovoj grupi su vrednosti kortizola rasle tokom perioda oporavka; takođe, ova grupa je imala značajno više vrednosti ACTH u svim tačkama merenja, sa značajno višim skokom u maksimalnom opterećenju. Nosioci *A3669G* polimorfizma u egzonu 9 β gena za GR imali su niže vrednosti kortizola, ali ova razlika nije bila značajna.

Ćelijski odgovor na glukokortikoide dominantno zavisi od: 1) nivoa glukokortikoida, 2) senzitivnosti ćelije na dati glukokortikoid, tj. efikasnosti glukokortikoidnim receptorom posredovane signalne transdukcije [202]. Izmena osetljivosti na GC može postojati u oba smera od optimalnog opsega (rezistencija ili hipersenzitivnost), i može biti generalizovana ili tkivno-specifična [203]. Takođe, može nastati na nekoliko različitih nivoa, od hemijske modifikacije GR (fosforilacija, nitrozilacija, acetilacija, i sumoilacija), preko efekta različitih transkripcionih faktora (nuklearni faktor κ B, activator protein-1, p53, SMAD6, itd.), preko nivoa ćelijske ekspresije i dostupnosti koaktivatora i korepresora transkripcije), do degradacije samog receptora preko ubikvitin-proteazom-posredovanog puta [204,205]. Nakon što je utvrđeno da određeni polimorfizmi gena za GR dovode do sindroma generalizovane rezistencije na GC, sve je više fokusa na one polimorfizme koji dovode do izmene osetljivosti ciljnih tkiva na GC, kao i do značajne interindividualne varijabilnosti aktivnosti HHN osovine [206].

Do sada je definisan veliki broj polimorfizama u genu za GR, ali samo nekoliko njih je funkcionalno relevantno: *TthIII* (rs10052957), ER22/23EK (rs6189 i rs6190), *N363S* (rs6195), *BclI* (rs41423247) i *A3669G* ili GR-9 β (rs6198) [207]. Ovi polimorfizmi su udruženi ne samo sa izmenom osetljivosti na GC i izmenjenim nivoom kortizola, već i sa razlikama u telesnom sastavu, metaboličkim parametrima, autoimunskim i kardiovaskularnim bolestima. Generalno se smatra da su *BclI* i *N363S*

udruženi sa povećanom senzitivnošću na GC, a ER22/23EK i A3669G sa povećanom rezistencijom.

Najviše ispitivani polimorfizam gena za GR je *BclI* polimorfizam, originalno opisan *Southern blot* tehnikom 1987. godine kao polimorfizam dužine restriktionog fragmenata (RFPL – *restriction fragment length polymorphism*) koji se sastoji od fragmenata dužine 4.5 kb i 2.3 kb [208]. Kasnije je restriktionom analizom precizno identifikovana nukleotidna alteracija i to supstitucija G → C, 646 nukleotida nishodno od 2. egzona u 2. intronu gena za GR, lociranog na 5q11 hromozomu [209]. Tranzicija G → C dovodi do gubitka restriktionog mesta dovodeći do nastanka većeg alela. G alel i C alel odgovaraju 2.3 kb odnosno 4.5 kb originalno opisanim alelima, tj. postojanje C alela odgovara polimorfizmu. Učestalost većeg C alela je relativno različita kod različitih nacija, pri čemu je najveća registrovana kod Azijaca (oko 8.7%), a kod Evropljana oko 7.4% [209,210].

Izmena osetljivosti na GC u slučaju postojanja *BclI* polimorfizma do sada je ispitivana u velikom broju eksperimenata, i mada ima dijametralno suprotnih zaključaka, dominira utisak da je ovaj SNP udružen sa povećanom osetljivošću na GC. U skladu sa ovim je nekoliko studija u kojima je postojanje *BclI* polimorfizma bilo udruženo sa abdominalnom gojaznošću, tj. nosioci su imali veći indeks telesne mase kao i veći odnos obima struka u odnosu na obim kuka [210-212]. Dodatno, ovaj SNP je bio udružen sa hiperinsulinemijom kod gojaznih žena i nivoom leptina u grupi sredovečnih muškaraca [213,210]. Nasuprot ovim zaključcima, u velikoj holandskoj populacionoj studiji koja je ispitivala starije osobe, nosioci *BclI* polimorfizma su imali niži indeks telesne mase i niži odnos obima struka i kuka, kao i tendenciju ka nižoj masi nemasnog tkiva [214]. S obzirom da nije detektovana razlika u masi masnog tkiva između nosilaca i nenosilaca polimorfizma, zaključeno je da je registrovana razlika u masi posledica gubitka (atrofije) mase mišićnog tkiva sa starenjem. Međutim, ima i drugih studija koje nisu detektovale udruženost ovog SNP sa gojaznošću [213,215]. Još jedna studija na 64 zdrava muškarca nije potvrdila povezanost sa indeksom telesne mase, ali je kod homozigotnih nosilaca *BclI* polimorfizma registrovana povećana *in vivo* senzitivnost na budesonid (intenzivnija izbeljenost kože usled vazokonstrikcije), što ukazuje na povećanu osetljivost na GC [216]. Ova studija je demonstrirala i jednu interesantnu pojavu a to je tkivna specifičnost uticaja *BclI* polimorfizma (kao što postoji i u samim efektima GC), s obzirom da su kod istih osoba istovremeno bili sniženi i

afinitet i senzitivnost leukocita na deksametazon, mada ovo nije bilo statistički značajno. Međutim, jedna skorija studija na 206 zdravih osoba oba pola iz Holandije je demonstrirala potpuno suprotan rezultat: homozigotni nosioci *BcII* polimorfizma su imali najmanji stepen izbeljivanja kože, što ukazuje na sniženu osetljivost subdermalnih krvnih sudova na GC; u ovoj studiji nije demonstrirana veza između GR polimorfizama i osetljivosti perifernih leukocita na GC [217]. Moguća objašnjenja za ovakvu diskrepancu u nalazima su da je efekat polimorfizama gena za GR ne samo tkivno specifičan, već i specifičan za određene države i nacije, a svakako zavisi i od veličine ispitivane grupe. Takođe, s obzirom da je ovaj polimorfizam intronski, odnosno ne obuhvata kodirajući region gena za GR, moguće je da je on u vezi sa drugim varijacijama, npr. u promotorskom regionu, ili je povezan sa drugim funkcionalno važnim polimorfizmima.

Nije detektovana udruženost sa vrednostima holesterola kao ni sa drugim faktorima rizika za kardiovaskularne bolesti, ali je ono postojala u slučaju osoba koje su istovremeno bile nosioci i *N363S* polimorfizma [218]. Kada su u pitanju autoimunske bolesti, *BcII* polimorfizam je udružen sa manjim rizikom za nastanak težih formi orbitopatije kod pacijenata sa Graves-ovom bolešću [219]; udružen je sa većim rizikom a nastanak Kronove bolesti ali ne i za nastanak ulceroznog kolitisa [220,221], mada pacijenti nosioci *BcII* odgovaraju bolje na GK terapiju; inicijalne studije nisu detektovale vezanost sa pojavom reumatoidnog artritisa [222,223], zatim je jedna holandska studija demonstrirala da je pojava reumatoidnog artritisa ređa kod nosilaca *BcII* polimorfizma [224], što je rezultat i jedne vrlo nedavne meta analize, bar kada su u pitanju pripadnici kavkaskе rase [225].

Posebna sfera interesovanja se odnosi na udruženost *BcII* SNP sa različitim psihijatrijskim bolestima. Više studija je pokazalo udruženost sa major depresijom [226-229]. Pacijenti sa depresijom koji su bili nosioci *BcII* polimorfizma imali su viši nivo ACTH i trend ka lošijem odgovoru na antidepresive [230]. Slično, nosioci *BcII* SNP su imali teži stepen posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSD – *posttraumatic stress disease*) [231,232]; nosioci ovog polimorfizma su u kombinaciji sa stresnim životnim događajima, brojem traumatskih događaja i socijalnom podrškom bili pod većom predispozicijom da uopšte razviju PTSD tokom života [233]. U studiji koja je ispitivala ratne veterane sa i bez PTSD, osobe sa PTSD koje su bile nosioci *BcII* polimorfizma su

imale teži stepen poremećaja i niži bazalni kortizol [234]. Sve navededno se objašnjava specifičnom izmenom osetljivosti HHN osovine, i izmenom njene reaktivnosti na stres.

Uticaj *BcII* polimorfizma na aktivnost HHN osovine je ispitivan u više studija i na više različitih modela. Za sada nije definisano da li ovaj SNP ima uticaja na bazalne vrednosti kortizola. U finskoj studiji na 437 osoba oba pola registrovano je da je određeni haplotip gena za GR (korišćeno je 6 haplotipskih markera) udružen sa višim baznim vrednostima kortizola; iako nije sasvim jasno koji funkcionalni SNP čine ovaj haplotip, *BcII* je uključen u njega [235]. Međutim, postoje i podaci da *BcII* polimorfizam ne dovodi do razlike u baznim, jutarnjim vrednostima kortizola [109].

Par studija je demonstriralo udruženost *BcII* polimorfizma sa nižim nivoom kortizola nakon deksametaonske supresije, što je u skladu sa prethodnim opservacijama o povećanoj osetljivosti na GC u slučaju ovog polimorfizma. Prva studija koja je ovo demonstrirala je koristila ispitanike iz poznate Roterdamske studije, i to 191 muškarac (grupa 1) i 1963 muškaraca i žena (grupa 2); u obe grupe su nosioci *BcII* polimorfizma (i heterozigoti i homozigoti) imali niže vrednosti kortizola nakon supresije i sa 0.25 mg i sa 1 mg deksametazona [214]. Sličan rezultat je dobijen nakon supresije sa 0.25 mg u analizi 116 muških ispitanika koji su bili nosioci specifičnog haplotipa introna B gena za GR (sa ukupno 3 intronska SNP), pri čemu je na nivou *BcII* alela postojao polimorfizam [236]. U velikoj studiji sprovedenoj u Brazilu, supresioni test je sproveden primenom 0.25, 0.5 i 1 mg deksametazona sa ciljem postizanja nivoa ispod 50 nmol/l; nosiocima *BcII* polimorfizma je bila potrebna najveća doza deksametazona za postizanje supresije [237].

Nasuprot ovim rezultatima, postojanje *BcII* polimorfizma nije uticalo na nivo supresije kortizola nakon 0.25 mg deksametazona u grupi od 229 muškaraca, ali ograničenje u interpretaciji rezultata ove studije je činjenica da su 2/3 ispitanika u ovoj studiji činile osobe sa aktuelnim ili prethodnim PTSD [238]. Sličan rezultat (odsustvo razlike u nivou supresije) registrovan je u grupi od 229 zdravih muškaraca nakon 0.5 mg deksametazona [109]. Međutim, u 20h istog dana, *BcII* heterozigoti su i dalje imali suprimovane vrednosti kortizola, dok je kod homozigota i *wild type* ispitanika registrovan trend ka višim, tj. nesuprimovanim vrednostima; ova razlika je bila na samoj granici statističke značajnosti.

Kada je u pitanju aktivacija HHN osovine, odnosno njen odgovor “na izazov”, Rosmond i saradnici su bili među pionirima ove analize, i u studiji na 284 ispitanika su

pokazali da su nosioci *BcII* polimorfizma imali više vrednosti salivarnog kortizola nakon stimulacije standardnim obrokom [205]. Delimično drugačiji rezultati su registrovani u studijama u kojima je praćen odgovor HHN osovine na psihosocijalni stres, i to korišćenjem modela TSST testa (*Trier Social Stress Test*). U studiji Wust i saradnika na 229 ispitanika muškog pola, osobe koje su bile homozigotni nosioci *BcII* polimorfizma imale su slabiji odgovor kortizola u odnosu na osobe sa *wild type* genotipom, i to i nakon TSST i nakon stimulacije sa ACTH [109]. S druge strane, heterozigotni nosioci istog polimorfizma su imali naglašeniji odgovor u odnosu na *wild type*, mada ova razlika nije dostigla statističku značajnost. Sličan rezultat je registrovan u drugoj kohorti od 206 zdravih ispitanika (118 žena i 88 muškaraca) – muškarci sa homozigotnim *BcII* polimorfizmom su imali atenuisan odgovor u odnosu na *wild type* ispitanike [110]. Zanimljivo, žene homozigotni nosioci istog polimorfizma su imale značajno veći (naglašeniji) odgovor u odnosu na *wild type*, što je demonstracija polnog dimorfizma u uticaju specifičnih SNP gena za GR na odgovor HHN osovine na stres. Nasuprot ovim rezultatima, efekat *BcII* polimorfizma nije detektovan u grupi od 87 muškaraca i 97 žena, a posmatrano kroz izmenu vrednosti kortizola nakon obroka; takođe, kod muškaraca koji su bili homozigotni nosioci ovog SNP, registrovan je samo trend ka višim vrednostima kortizola u testu stimulacije sekrecije na progresivnom testu na biciklu, a 8 h nakon primene 4 mg deksametazona [239].

Do sada nisu sprovedene studije koje su ispitivale diferencijalni odgovor HHN osovine na akutni fizički stres. Uz ograničenje da se radi o relativno malom uzorku, naši rezultati u vezi uticaja *BcII* polimorfizma na akutni odgovor HHN osovine su u skladu sa prethodno opisanim u studijama Wust i saradnika [109] i Kumsta i saradnika [110], ali samo kada su u pitanju sportisti, ali ne i kada su u pitanju sedentarni ispitanici. Potencijalna objašnjenja za ovu diskrepancu su mali uzorak sedentarnih kontrola, a moguće i izmena ekspresije i aktivnosti GR kod sportista koji su hronično izloženi stresu.

N363S polimorfizam je lociran u 363. kodonu 2. egzona gena za GR, i dovodi do nukleotidne izmene AAT → AGT. Ova zamena dovodi zatim do aminokiselinske alteracije iz aspargina (N) u serin (S) [240]. S obzirom da se radi o polimorfizmu u kodirajućem regionu receptorskog gena, ovaj SNP pokazuje povećan trans-aktivacioni kapacitet *in vitro*, a udružen je sa pojačanom senzitivnošću na GC *in vivo*.

Više studija je demonstriralo udruženost N363S polimorfizma sa većim ITM [208,216], sa većim odnosom OS/OK [232], sa većom predispozicijom za prekomernu telesnu masu kod dijabetičara [243]. U studiji na 216 starijih ispitanika nosioci N363S polimorfizma su imali ne samo veći ITM, nego i nižu koštanu gustinu na osteodenzitometriji [244]. Ipak, kontroverza je nastupila nakon objavljivanja par studija koje nisu potvrdile vezu između N363S SNP i ITM, odnosa OS/OK, kao i dobijanja u težini [245,246]. Velika meta analiza na 5909 ispitanika iz 12 studija je pokazala da sveukupan rizik za gojaznost kod osoba sa N363S polimorfizmom nije statistički značajan; značajno veći ITM je potvrđen samo u populaciji osoba koje su bile nosioci N363S SNP a imale ITM manji od 27 kg/m² [247].

U već opisanoj studiji na 279 muškaraca i žena [218] osobe koje su bile nosioci i *BclII* i N363S polimorfizma imale su i više vrednosti holesterola. Slično, u holandskoj studiji na 552 ispitanika starija od 85 godina, postojanje N363S polimorfizma je bilo udruženo za značajno višim vrednostima LDL-holesterola i triglicerida [248]. U ovoj studiji nije demonstriran uticaj N363S na parametre telesnog sastava.

Kada su u pitanju autoimunske bolesti, nisu utvrđene udruženosti N363S polimorfizma sa multiplom sklerozom [249], inflamatornim bolestima creva (i Kronova bolest i ulcerozni colitis [220,221], sa orbitopatijom u Grejvsovoj bolesti [219], kao ni sa reumatoidnim artritismom [223]. Međutim, nešto novija holandska studija je ukazala da je rizik za reumatoidni artritis niži kod nosilaca N363S polimorfizma [250].

Do sada nema podataka o tome da li postojanje N363S SNP utiče na bazalne vrednosti kortizola. Ali je studiji Huizenga i saradnici sprovedenoj na 216 ispitanika postojanje ovog polimorfizma bilo udruženo sa većom supresijom kortizola nakon primene 0.25 mg deksametazona [244]. Nasuprot tome, već spominjana švedska studija sprovedena na 284 osobe nije pokazala značajnu razliku u nivoima kortizola nakon deksametazonske supresije (0.5 mg) između osoba sa i bez polimorfizma [246].

Kada je u pitanju uticaj na aktivaciju HHN osovine, u već spominjanoj studiji na 229 zdravih muških ispitanika, nosioci N363S polimorfizma su imali naglašeniji odgovor kortizola (i salivarnog i plazma kortizola) nakon TSST testa, kao i nakon stimulacije sa ACTH [109]. Kod ove grupe ispitanika je i odgovor kortizola bio značajno naglašeniji. Sličan odgovor kortizola je registrovan u drugoj kohorti od 88 muškaraca, gde su nosioci polimorfizma imali najnaglašeniji odgovor na psihosocijalni

stres [110]. I slično kao i u slučaju *BclII* polimorfizma, 118 žena iz iste studije je imalo praktično odsutan odgovor kortizola u testu.

Naglašeniji odgovor kortizola i ACTH je demonstriran i kod sportista u našoj studiji, a naročito kod vaterpolista.

Ovaj polimorfizam je predstavljen supstitucijom A u G u tzv. "ATTTA motivu" lociranom na 3' kraju egzona 9 β . Pokazano je da ovaj "ATTTA" motiv destabilizuje iRNK i smanjuje ekspresiju receptorskog proteina *in vitro* [246]. Izmena ATTTA u GTTTA izgleda menja stabilnost iRNK kao i proteinsku ekspresiju *in vitro*, a povećava ekspresiju i stabilnost GR- β *in vivo*. GR- β nastaje alternativnim sečenjem gena za GR. Ova β izoforma recetora se nalazi u jedru ćelija, ali ne vezuje GC, niti aktivira gene koji su inače responsivni na GC. Drugim rečima, funkcioniše kao inhibitor aktivne GR- α izoforme. Smatra se da povećana ekspresija i stabilnost GR- β izoforme GR dovodi do relativne rezistencije na GC [251].

U studiji na 216 slučajno izabраниh ispitanika iz Roterdamske studije nije registrovana udruženost A3669G polimorfizma sa ITM, odnosom OS/OK, insulinskom senzitivnošću i nivoima ukupnog, LDL i HDL-holesterola [252]. Međutim, u drugoj studiji je opisana udruženost ovog SNP sa povoljnijim lipidnim profilom kod muškaraca i manjim odnosom OS/OK kod žena [253]. U istoj studiji nisu registrovana udruženost sa vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, glikemijom našte, i nivoom isnulina tokom OGTT-a (testa oralnog opterećenja glikozom).

Kada su u pitanju autoimunske bolesti, pokazana je udruženost sa reumatoidnim artritismom, ali ne i SEL [251]. S druge strane, ova udruženost nije potvrđena na dosta većoj grupi pacijenata sa RA (198 vs 30 u prethodnoj studiji) [223]. Međutim, mana ove studije je ta što nije analizirano prisustvo ER22/23EK polimorfizma, koji je povezan sa 9 β polimorfizmom. Jedna skorija studija na 368 pacijenata sa reumatoidnim artritismom i 5033 kontrola je pokazala da su osobe nosioci 9 β haplotipa (bez ER22/23EK) bili pod većim rizikom za reumatoidni arthritus u odnosu na kontrole [224].

Prisustvo aktivnijeg imunskog statusa kod osoba sa 9 β polimorfizmom je pokazano i demonstracijom povišenih nivoa inflamatornih parametara kao što su IL-6 i CRP, u smislu postojanja blagog, ali hroničnog proinflamatornog stanja [254]. Kao posledica ovoga, na velikom uzorku od 4878 osoba starijih od 55 godina, osobe sa 9 β

polimorfizmom su imale gotovo tri puta deblju intima mediju na krvnim sudovima, i povećan rizik za infarkt miokarda i koronarnu srčanu bolest [254].

Glukokortikoidni receptor je u fokusu i u hematološkim istraživanjima, s obzirom na uticaj na nekoliko koraka u mijeloidnoj hematopoezi. Tako je pokazana asocijacija A3669G SNP sa policitemijom verom i primarnom mijelofibrozmom [255,256]. Međutim, i ova tema je skopčana sa kontroverzama, s obzirom da ima studija koje ovu povezanost nisu potvrdile [257].

Uticaj A3669G polimorfizma nije ekstenzivno ispitivan u psihijatrijskim bolestima, ali je demonstriran manji rizik za nastanak bipolarnog poremećaja, a kod osoba sa potvrđenim bipolarnim poremećajem, klinička slika je bila blaža (manje maničnih i hipomaničnih epizoda [258].

Do sada ima veoma malo podataka o uticaju A3669G SNP na bazalne vrednosti kortizola. U studiji na 231 zdravom ispitaniku mlađih godina (od toga 115 ženskog pola, prosečne starosti 23 ± 2.8) registrovano je da u muškarcima nosiocima polimorfizma (nosioci minor alela) imali više vrednosti CAR (posmatrano kao AUC) u odnosu na muškarce sa *wild type* genotipom, mada ova razlika nije dostigla statističku značajnost [259]. I u ovoj studiji je potvrđen polni dimorfizam efekata različitih varijanti gena za GR: nasuprot muškarcima, nije bilo razlike u vrednostima CAR kod žena nosilaca A3669G polimorfizma.

U već spomenutoj holandskoj studiji na starijim osobama iz Roterdamske studije nije potvrđen uticaj ovog polimorfizma na nivo supresije kortizola nakon primene 0.25 i 1 mg deksametazona [252]. Međutim u studiji na mlađim osobama (25.1 ± 3.9 godina) muškarcima nosiocima 9β polimorfizma su imali statistički značajno najviše vrednosti ACTH i CAR u odnosu na sve druge ispitivane polimorfizme gena za GR (*BclII*, N363S, ER22/23EK) [110]. Pripadnice ženskog pola sa 9β polimorfizmom su imale najniže vrednosti i ACTH i CAR, mada ovo nije bilo statistički značajno.

U skladu sa ovim je i rezultat o uticaju A3669G SNP na odgovor kortizola na psihosocijalni stres (TSST) u istoj studiji [110]: nosioci ovog polimorfizma su imali značajno više vrednosti i kortizola i ACTH u testu. U našoj grupi profesionalnih sportista postojanje 9β polimorfizma nije uticalo na akutni odgovor HHN osobine u fizičkom stresu, pri čemu su nosioci polimorfizma imali niže vrednosti kortizola (bez statističke značajnosti).

Sporitsti koji su bili heterozigotni nosioci -2G/C polimorfizma imali su značajno više anticipatorne vrednosti kortizola (na početku testa) i u maksimalnom opterećenju u odnosu i na homozigotne nosioce i na sportiste sa *wild type* genotipom. U skladu sa ovim je i razlika u načinu odgovora (između M i P). Nije bilo razlike u pojedinačnim vrednostima i načinu odgovora između homozigota i sportista sa *wild type* genotipom, kao ni uticaja ovog SNP na odgovor kortizola kod kontrola. Polimorfizam I180V nije uticao na odgovor kortizola ni kod sportista ni kod kontrola.

Kada je u pitanju uticaj MR na odgovor u stresu, za razliku od GR (ekspimiranog duž gotovo svih regiona mozga), MR je dominantno ekspimiran u hipokampusu i amigdalama, pri čemu je u hipokampusu kolokalizovan sa GR [260]. Genomski, citoplazmatski MR funkcioniše kao transkripcioni faktor; zbog visokog afiniteta za GC, većina genomskih MR je kontinuirano zauzeta tokom diurnalnog HHN ciklusa, u poređenju sa oko 10% celokupne populacije GR [261]. Kao rezultat, genomski MR ima načelno regulatornu ulogu i determiniše senzitivnost HHN osovin i postavlja granicu za njenu aktivaciju tokom stresa.

Iako su istraživanja stresnog odgovora dominantno bila vezana za GR, GR i MR imaju komplementarne uloge kada je u pitanju funkcionalnost HHN osovine [262]. Visok afinitet MR za kortizol je bio razlog zašto se smatralo da MR dominantno potpomaže funkcionalnost GR, a da nema nezavisnu ulogu u reaktivnosti na stres. Međutim tokom poslednje dve decenije je pokazano da tokom stresnog događaja, pod stimulacijom kortizola, MR ispoljavaju brze efekte na transmisiju i sinaptičku plastičnost na nivou hipokampusa i amigdala [263,264]. Ovi brzi, negenomski efekti kortizola, posredovani su membranskim MR [264,265]. U ovom kontekstu, membranski MR može da procesuiru brze efekte stresom-indukovanog porasta nivoga GC i da utiče na sagledavanje akutne stresne situacije u inicijalnoj fazi [266]. Kortizol ima niži afinitet za membranski MR u poređenju sa citoplazmatskim, i potrebne su 10-20 puta veće koncentracije kortikosterona kako bi se putem membranskog MR povećao prenos signala kroz hipokampus [263].

Do sada je opisano nekoliko veoma retkih mutacija u genu za MR (učestalost u opštoj populaciji je manja od 1%) koje su udružene sa nastankom pseudohipoaldosteronizma tip I (PHA I). Ovo retko stanje se karakteriše elektrolitnim poremećajem usled nemogućnosti bubrega da odgovore na mineralokortikoide. *In vitro* studije su pokazale da sve mutacije uključene u nastanak PHA I dovode do gubitka

transaktivacionog kapaciteta MR [267]. Daleko češći, SNP u genu za MR udruženi su sa različitim vrstama kliničkih varijabilnosti kod zdravih osoba. Neke od varijabilnosti se odnose na mineralokortikoidne efekte (kao što je npr. sklonost ka hipertenziji) a neke na glukokortikoidne (kao što je npr. izmena stresnog odgovora).

Kada je u pitanju analiza različitih polimorfizama gena za MR u odnosu na reaktivnost HHN osovine, do sada je pokazan uticaj dva SNP. Na poziciji -2, dva nukleotida pre prvog ATG startnog kodona, G/C SNP (rs2070951, učestalost otprilike 50%), menja transaktivacionu aktivnost kortizola kao liganda [268]. U drugom egzonu, na mestu 180. kodona, izmena GTT → ATT dovodi do zamene izoleucina u valin (rs5522, frekvenca približno 11%), i dovodi do gubitka funkcije kortizola kao liganda [127,269]. Ova dva polimorfizma su u niskoj neravnoteži vezanosti (*linkage disequilibrium*) ($r^2=0.11$) i njihova kombinacija teoretski rezultira u 4 haplotipa od kojih su 3 česta u opštoj populaciji (GA, CA i CG haplotip), dok je haplotip 4 (GG) ekstremno retko registrovan [270]. Veliki broj kliničkih studija je sproveden upravo na ovim haplotipovima.

Polimorfizam -2G/C je lokalizovan izvan kodirajućeg regiona gena za MR, ali unutar tzv. Kozak regulatorne sekvence koja reguliše transkripciju MR. U *in vitro* studijama, postojanje C alela je bilo udruženo sa povećanom ekspresijom i povećanom funkcionalnošću MR [125].

U kliničkim uslovima, ovo je imalo posledice na baznu aktivnost HHN osovine, demonstrirano baznim vrednostima kortizola. Nosioi G-alela u opštoj populaciji (i muškarci i žene) imali su više jutarnje vrednosti kortizola i sveukupno veću (dnevnu) nestimulisanu sekreciju kortizola [130]. U skladu sa tim, nosioi C-alela u grupi osoba starijih od 85 godina su imali niže bazne vrednosti kortizola [268]. Sličan rezultat je dobijen u studiji na 1026 pacijenata (324 muškarca, 702 žene, 43.6 ± 12.4 godina starosti) lečenih (aktuelno ili tokom života) od kliničke depresije; u ovoj studiji postojanje C-alela je uticalo na CAR samo kod žena, pri čemu su CC homozigoti imali atenuisan CAR, ali je ovaj efekat bio posledica interakcije sa SSRI (*selective serotonin reuptake inhibitors* – selektivni inhibitori preuzimanja serotonina [271]. Ovakav rezultat je očekivan ako se uzmu u obzir *in vitro* nalazi, tj. povećana ekspresija MR bi mogla dovesti do povećane toničke inhibicije osovine, i do nižeg baznog nivoa kortizola [131,271].

Međutim, nisu sve studije konzistentne u nalazima. Uticaj nije registrovan u dve studije na relativno mlađim osobama. U prvoj je ispitano 217 zdravih ispitanika (od toga 115 žena, prosečne starosti 23 ± 2.8 godina) [259]. U drugoj je ispitano 218 zdravih osoba (125 žena koje su sve bile na oralnim kontraceptivima i 93 muškarca), takođe bez uticaja -2G/C na CAR [125]. U istoj studiji, CAR je određivan i nakon supresije sa 0.25 mg deksametazona. U ovom kontekstu je potvrđen uticaj -2G/C SNP koji je bio i polno specifičan: muškarci koji su bili homozigoti za major alel (GG) imali su značajno najveći CAR, a žene sa istim genotipom su imale značajno najniži CAR. Nije registrovan uticaj ovog polimorfizma na bazni nivo ACTH (ni u bazalnim uslovima ni nakon supresije deksametazonom). Ovakva različitost u nalazima (razlika u tome da li ima ili nema uticaja) ukazuje da udruženost efekata sa datim polimorfizmom u genu za MR izgleda zavisi od datih okolnosti, kao što je npr. zavisnost od toga da li se radi o određenoj vrsti izazova (kao što je npr. deksametazonska supresija).

Kada je u pitanju uticaj -2G/C na odgovor HHN osovine na stres, 47 srednjoškolskih nastavnika (31 žena i 16 muškaraca) iz veće kohorte od 166 nastavnika, bilo je izloženo psihosocijalnom stresu. Nosioi C alela (CA haplotip) imali su naglašen odgovor osovine meren puten nivoa ACTH, serumskog i salivarnog kortizola [131]. Obrnuto, nosioi G alela su imali oslabljen odgovor. Nasuprot ovom rezultatu, nije registrovan efekat ovog SNP kod adolescenata [272].

Interesantno, u studiji na srednjoškolskim nastavnicima, osobe koje su bile nosioi C-alela i koje su imale povećanu stresnu reaktivnost HHN osovine, imale su sniženu percepciju stresa. U studiji sa gerijatrijskom populacijom nije registrovana udruženost ovog SNP sa parametrima depresije (*Geriatric Depression Scale* – gerijatrijska skala depresije) [268]. Takođe, kod žena nosilaca C-alela (haplotip 2) registrovan je povišen stepen optimizma i manji rizik za depresiju [271].

Inicijalne analize u vezi ovog polimorfizma potiču iz *in vitro* studija u kojima je pokazano da je 1180V SNP u genu za MR udružen sa sniženim transaktivacionim kapacitetom MR, kada je kao ligand korišćen kortizol [126]. U već spominjanoj studiji na 218 zdravih dobrovoljaca mlađeg životnog doba, nije registrovan uticaj I180V polimorfizma na CAR u bazalnim okolnostima, mada je registrovan trend ka višim vrednostima CAR kod muškaraca koji su bili nosioi WT genotipa [125]. Kada je u pitanju CAR nakon supresije sa 0.25 mg deksametazona, muški nosioi A-alela (major

alel) imali su značajno manju supresiju (značajno viši CAR). Međutim, efekat na CAR nije registrovan kod 1026 pacijenata lečenih od kliničke depresije [271].

Kada je u pitanju odgovor na stres, efekat I180V nije registrovan kod adolescenata [267], nije registrovan ni u studiji na 64 zdrave osobe [132], kao ni u studiji na 47 srednjoškolskih nastavnika [131]. Međutim, u studiji na 110 muških blizanaca (srednja starost 18.7 godina) nosici minor alela su imali značajno veći odgovor salivarnog i plazma kortizola na psihocijalni stres [127]. Postojanje ovog SNP nije uticalo na odgovor ACTH. Takođe, i veoma značajno, u istoj studiji nosici minor alela su imali značajno veći skok pulsa (veći autonomni output) i to još tokom pripremne faze, tj. pre nego što je uopšte došlo do skoka kortizola (ovo ukazuje na brže neuronalne odgovore). Diskrepanca ovog u odnosu na prethodne rezultate je objašnjena relativno niskom učestalošću minor alela u opštoj populaciji (12%).

Nosici 180V su imali više vrednosti na skali deprsije GDS/15 (*Geriatric Depression Scale*) [268]. U studiji na 217 zdravih osoba mlađeg životnog doba, osobe nosioci polimorfizma su davali više ocene na skalama procene doživljenog stresa i opšteg blagostanja [259].

U studiji na 89 osoba (33 žene i 56 muškaraca) prosečne starosti 46.0 godina i sa blagom hipertenzijom, postojanje I180V polimorfizma nije uticalo na elektrolitni balans, PRA i aldosteron kao i na odgovor PRA i aldosterona na opterećenje solju [127]. U velikoj populacionoj studiji na 1502 ispitanika (788 žena) postojanje homozigotnosti za minor alel (GG) je bilo udruženo sa značajno manjim rizikom za hipertenziju [273]. Nasuprot tome, u studiji sa 181 osobom sa rezistentnom hipertenzijom i 122 osobe sa blagom do umerenom hipertenzijom, nije uočena razlika u učestalostima alela; međutim, osobe sa rezistentnom hipertenzijom koje su bile nosioci minor G-alela I180V SNP imale su hipertrofiju leve komore srca, kao i značajno više vrednosti aldosterona [274].

U promotorskom regionu gena za MC2R (ACTH receptor) do sada je identifikovano više polimorfizama, a specifični polimorfizam sa tranzicijom CTC→CCC je udružen sa sniženjem promotorske aktivnosti *in vitro* i sa sniženjem sekrecije kortizola nakon produžene stimulacije od strane ACTH *in vivo* [140].

Na ograničenom broju ispitanika u našoj studiji, nije registrovan uticaj ovog polimorfizma na odgovor kortizola, kao ni na vrednosti ACTH. Iako je učestalost

heterozigotnih nosilaca polimorfizma bila u skladu sa prethodno prijavljenim, u našoj grupi ispitanika nismo registrovali homozigotne nosioce.

U studiji na još manjem broju ispitanika (21) pokazano je da nije bilo razlika u baznim vrednostima serumskog kortizola, ACTH i urinarnog slobodnog kortizola, ali su homozigotni nosioci (CCC/CCC) imali značajno manji odgovor kortizola nakon stimulacije sa egzogenim ACTH u odnosu na osobe sa CTC/CTC genotipom [140]. Heterozigotni nosioci su imali intermedijarne vrednosti, ali ne značajno različite u odnosu na CTC/CTC nosioce. U istoj grupi ispitanika je sprovedena stimulacija sa CRH, nakon čega su CCC/CCC nosioci pokazali tendenciju ka višim vrednostima ACTH dok nije bilo razlike u vrednostima kortizola; ovakav rezultat je u skladu sa sniženom osetljivošću nadbubrega na ACTH kod homozigotnih nosilaca polimorfizma, što je kompenzovano povećanom hipofiznom sekrecijom ACTH.

Potvrđeno je da je učestalost ovog SNP značajno veća kod dece sa težim znacima prevremene adrenarhe nego kod njihovih zdravih vršnjaka [141]. U istoj studiji, zdrava deca (kontrole) koji su bili nosioci CCC/CCC genotipa imali su značajno viši odnos ACTH/kortizol (ukazuje na smanjenu osetljivost na ACTH), a deca sa prevremenom adrenarhom i CCC/CCC genotipom više bazne vrednosti dehidroepiandrosterona (DHEA), androstenediona i plazma ACTH. U drugoj studiji na 14 mladih adulta (6 je imalo CCC/CCC genotip), homozigotni nosioci su imali značajno niži skok DHEA u odnosu na nosioce *wild type* genotipa nakon šestočasovne stimulacije sa ACTH, dok se bazne koncentracije DHEA nisu razlikovale među grupama [142].

VI ZAKLJUČCI

1. Profesionalni sportisti imaju atenuisan akutni odgovor kortizola na fizički stres u poređenju sa sedentarnim kontrolama, ali naglašeniji u odnosu na sedentarne kontrole koje su izložene psihičkom stresu.
2. Izloženost stresu (i fizičkom i psihičkom) praćena je ne samo neuroendokrinom, nego i metaboličkom adaptacijom, koje po svemu sudeći značajno ne zavise od vrste stresa.
3. Redovni trening profesionalnih sportista može da dovede do faznog pomeranja u sekreciji kortizola u odnosu na uobičajen cirkadijalni ritam, međutim, nivo sekrecije zavisi i od drugih faktora, prvenstveno energetske rezervi organizma.
4. Sportisti izloženi fizičkom stresu i kontrole izložene psihičkom stresu su se značajno razlikovali u jutarnjim vrednostima kortizola, ali ne i u nivou supresije kortizola, bar kada je u pitanju test sa 1 mg deksametazona.
5. Postojanje *BclI* je uticalo na atenuisan odgovor kortizola na akutni fizički stres kod sportista, ali ne i kod obe grupe kontrola; kod kontrola izloženih psihičkom stresu su nosioci polimorfizma imali atenuisan odgovor ACTH.
6. Sportisti nosioci N363S polimorfizma imali su više vrednosti kortizola tokom oporavka, i znatno više vrednosti ACTH; nije registrovan značajan uticaj kod kontrola neizloženih stresu.
7. U našoj grupi ispitanika nismo registrovali značajne uticaje polimorfizama A3669G (GR), -2G/C (MR), I180V (MR) i CTC→CCC (MC2R) na odgovor hormona HHN osovine na akutni fizički stres.

VII LITERATURA

1. Cannon WB. Organization for physiological homeostasis. *Physiol Rev* 1929;9:399–431.
2. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 1936;138:32-36.
3. McEwen BS. Stressed or stressed out: what is the difference? *J. Psychiatry Neurosci* 2005;30(5):315–18.
4. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 1998;338:171–79.
5. McEwen BS. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharm* 2000;22:108–24.
6. Schulkin J, McEwen BS, Gold PW. Allostasis, amygdala, and anticipatory angst. *Neurosci Biobehav Rev* 1994;18:385–96.
7. Levine S. Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinol* 2005;30:939–46.
8. Seligman ME, Beatley G. Learned helplessness in the rat. *J Comp. Physiol* 1975;88:534-41.
9. Belke TW, Wagner JP. The reinforcing property and the rewarding after effect of wheel running in rats: a combination of two paradigms. *Behav Processes* 2005;68:165–72.
10. Mason JW. A re-evaluation of the concept of “non-specificity” in stress theory. *J Psych Res* 1971;8:323–33.
11. Chrousos GP, Gold PW 1992 The concepts of stress and stress system disorders. *JAMA* 267:1244–52.
12. Pacák K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 2001;22(4):502-48.
13. Droste SK, Gesing A, Ulbricht S, Muller MB, Linthorst AC, Reul JM. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 2003;144:3012–23.
14. Girard I, Garland T Jr. Plasma corticosterone response to acute and chronic voluntary exercise in female house mice. *J.Appl.Physiol* 2002;92:1553–1561.
15. Hackney AC. Exercise As a Stressor to the Human Neuroendocrine System. *Medicine (Kaunas)* 2006;42(10):788-96.
16. McMurray RG, Hackney AC. Endocrine responses to exercise and training. In: Garrett WE, Kirkendall DT, editors. *Exercise and Sport Science*. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 135-56.
17. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Chrousos GP. Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Horm Res* 2003;59:161–79.
18. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5:374–381.

19. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 2007;87:873–904.
20. Chrousos GP. Organization and integration of the endocrine system: the sleep and wakefulness perspective. *Sleep Med Clin* 2007;2:125–45.
21. Taché Y, Bonaz B. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J Clin Invest* 2007;117:33–40.
22. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, TH1/TH2-patterns, pro/anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:359–68.
23. Sapolsky RM, Romero MI, Munck AU. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocr Rev* 2000;21(1):55-89.
24. Kayes-Wandover KM, White PC. Steroidogenic Enzyme Gene Expression in the Human Heart. *J Clin Endocrin Metab* 2000;85:2519-525.
25. Walker BR. Glucocorticoids and Cardiovascular Disease. *Eur J Endocrin* 2007;157:545-59.
26. Stewart PM. The Adrenal Cortex. U: Kronenberg HM, Sholmo M, Polonsky KS, Larsen PR uređivači. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11th ed. Philadelphia, USA: Saunders Elsevier, 2008:456-58.
27. Dallman M, Strack A, Akana S, et al. Feast and Famine: Critical role of Glucocorticoids With Insuline in Daily Energy Flow. *Front Neuroendocrinol* 1993;14:303-47.
28. Stephens MA, Wand G. Stress and the HPA axis: role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Res* 2012;34(4):468-83.
29. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995;332:1351–62.
30. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosc.* 2006; 8(4): 383–95.
31. Jacobson L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axix regulation. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2005;34:271-92.
32. Seidah NG, Benjannet S, Hamelin J, et al. The subtilisin/kexin family of precursor convertases: emphasis on PC1, PC2/7B2, POMC and the novel enzyme SKI-1. *Ann N Y Acad Sci* 1999;885:57–74.
33. Yazdi FT, Clee SM, Meyre D. Obesity genetics in mouse and human: back and forth, and back again. *PeerJ.* 2015; 24:3:e856.
34. Raffin-Sanson ML., de Keyzer Y., Bertagna X. Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: from physiology to pathological conditions. *Eur J Endocrinol* 2003;149:79–90.
35. Thomas M, Keramidas M, Monchaux E, et al. Dual hormonal regulation of endocrinotissue mass and vasculature by adrenocorticotropin in the adrenal cortex. *Endocrinology* 2004;145:4320–9.

36. Rubin RT, Phillips JJ, Sadow TF, et al. Adrenal gland volume in major depression. Increase during the depressive episode and decrease with successful treatment. *Arch Gen Psychol* 1995;52:213–8.
37. DeKloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, et al. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998;19:269–301.
38. Walker BR. Glucocorticoids and Cardiovascular Disease. *Eur J Endocrin* 2007;157:545-59.
39. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 1984;5:1–24.
40. Young EA, Lopez JF, Murphy-Weinberg V, et al. The role of mineralocorticoid receptors in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3339–45.
41. de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998;19:269-301.
42. Dallman MF, Levin N, Cascio CS, Akana SF, Jacobson L, Kuhn RW. Pharmacological evidence that the inhibition of diurnal adrenocorticotropin secretion by corticosteroids is mediated via type I corticosterone-preferring receptors. *Endocrinology* 1989;124:2844-50.
43. Revollo JR, Cidlowski JA. Mechanisms Generating Diversity in Glucocorticoid Receptor Signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:167-78.
44. Dallman MF. Fast glucocorticoid actions on brain: back to the future. *Front Neuroendocrinol* 2005;26:103-8.
45. Herman JP, McKlveen JM, Solomon MB, Carvalho-Netto E, Myers B. Neural regulation of the stress response: glucocorticoid feedback mechanisms. *Braz J Med Biol Res.* 2012;45(4):292-8.
46. Mitre-Aguilar IB, Cabrera-Quintero AJ, Zentella-Dehesa A, Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(1):1–10.
47. Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, Tasker JG. Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci* 2003;23:4850-57.
48. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, et al. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamopituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol* 2003;24: 151-80.
49. Radley JJ, Kabbaj M, Jacobson L, Heydendael W, Yehuda R, Herman JP. Stress risk factors and stress-related pathology: neuroplasticity, epigenetics and endophenotypes. *Stress* 2011;14:481-497.
50. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Compr Physiol.* 2016; 6(2): 603–21.

51. VanCauter E, Copinschi G, Turek FW. Endocrine and other biologic rhythms. U: DeGroot LJ, Jameson JL, DeGroot LJ, et al, urednici. *Endocrinology*. Philadelphia: WB Saunders; 2001. str. 235–56.
52. Buijs RM, Hermes MHLJ, Kalsbeek A. The suprachiasmatic-paraventricular nucleus interactions: a bridge to the neuroendocrine and autonomic nervous system. *Prog Brain Res* 1998;119:365–82.
53. Choi S, Wong LS, Yamat C, et al. Hypothalamic ventromedial nuclei amplify circadian rhythms: do they contain a food-entrained endogenous oscillator? *J Neurosci* 1998;18:3843–52.
54. Bradbury MJ, Akana SF, Dallman MF. Roles of type I and II corticosteroid receptors in regulation of basal activity in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during the diurnal trough and the peak: evidence for a nonadditive effect of combined receptor occupation. *Endocrinology* 1994;34:1286–96.
55. Duclos M, Guinot M, Le Bouc Y. Cortisol and GH: odd and controversial ideas. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007;32:895-903.
56. Duclos M, Corcuff JB, Rashedi M, Fougere V, Manier G. Trained versus untrained men: different immediate post-exercise responses of pituitary-adrenal axis. A preliminary study. *Eur J Appl Physiol* 1997;75:343-50.
57. Judelson DA, Maresh CM, Zamamoto LM, Farrell MJ, Armstrong LE, Kraemer WJ, et al. Effect of hydration state on resistance-induced endocrine markers of anabolism, catabolism, and metabolism. *J Appl Pyhsiol* (1985) 2008;105:816-24.
58. Branderberger G, Follenius M, Hietter B, Reinhardt B, Simeoni M. Feedback from meal-related peaks determines diurnal changes in cortisol responses to exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:592-94.
59. Kanaley JA, Weltman JY, Pieper KS, Weltman A, Hartman ML. Cortisol and growth hormone responses to exercise at different times of day. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2881-89.
60. Ronsen O, Kjeldsen-Kragh J, Haug E, Barh R, Pedersen BK. Recovery time affects immunoendocrine responses to a second bout of endurance exercise. *Am J Physiol* 2002;283:C1612-C1620.
61. Kraemer RR, Castracane VD: Endocrine alterations from concentric vs. eccentric muscle actions: a brief review. *Metabolism* 2015;64:190-201.
62. Crewther BT, Cook C, Cardinale M, Weatherby RP, Lowe T. Two emerging concepts fo elite athletes: the short-term effects of testosterone and cortisol on the neuromuscular system and the dose-response training role of these endogenous hormones. *Sports Med* 2011;41:103-23.
63. Isner-Horobeti ME, Dufour SP, Vautravers P, Geny B, Coudeyre E, Richard R. Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives. *Sports Med* 2013;43:483-512.
64. Viau V, Meaney MJ. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamo-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area. *J Neurosci*. 1996; 16:1866–76.

65. Viau V, Meaney MJ. Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology*. 1991; 129:2503–2511.
66. Tersman Z, Collins A, Eneroth P. Cardiovascular responses to psychological and physiological stressors during the menstrual cycle. *Psychosom Med* 1991;53:185–97.
67. Kirschbaum C, Kudielka BM, Gaab J, Schommer NC, Hellhammer DH. Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosom Med*. 1999; 61:154–162.
68. Stephens MA, Mahon PB, McCaul ME, Wand GS. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to acute psychosocial stress: Effects of biological sex and circulating sex hormones. *Psychoneuroendocrinology* 2016;66:47-55.
69. Turner AI, Rivalland ET, Clarke IJ, Tilbrook AJ. Stressor specificity of sex differences in hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity: cortisol responses to exercise, endotoxin, wetting, and isolation/restraint stress in gonadectomized male and female sheep. *Endocrinology* 2010;151(9):4324-31.
70. Gunnar M, Quevedo K. The neurobiology of stress and development. *Annu Rev Psychol* 2007; 58:145–73.
71. Sapolsky RM. Do glucocorticoid concentrations rise with age in the rat? *Neurobiol Aging* 1991;13:171–74.
72. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr Rev* 1986; 7:284–301.
73. Turnbull AV, Rivier C. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1999;79:1–71.
74. Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ. Interleukin-6 is an essential, corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:9317–22.
75. Herman JP, Tasker JG. Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2016;31;7:137.
76. Akana SF, Dallman MF, Bradbury MJ, Scribner KA, Strack AM, Walker CD. Feedback and facilitation in the adrenocortical system: unmasking facilitation by partial inhibition of the glucocorticoid response to prior stress. *Endocrinology* 1992; 131:57–68.
77. Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291:E965–73.
78. Dhabhar FS, McEwen BS, Spencer RL. Adaptation to prolonged or repeated stress--comparison between rat strains showing intrinsic differences in reactivity to acute stress. *Neuroendocrinology* 1997; 65:360–8.
79. Nesse RM, Bhatnagar S, Young E. The evolutionary origins and functions of the stress response. U: Fink G, urednik. *The Encyclopedia of Stress*. Vol. Second Edition. Academic Press; New York: 2007.
80. Golier JA, Schmeidler J, Legge J, Yehuda R. Twenty-four hour plasma cortisol and adrenocorticotrophic hormone in gulf war veterans: Relationships to posttraumatic stress disorder and health symptoms. *Biological Psychiatry* 2007;62(10):1175–8.

81. Suris A, North C, Adinoff B, Powell CM, Greene R. Effects of exogenous glucocorticoid on combat-related PTSD symptoms. *Ann Clin Psychiatry* 2010;22:274–9.
82. Cole MA, Kalman BA, Pace TW, Topczewski F, Lowrey MJ, Spencer RL. Selective blockade of the mineralocorticoid receptor impairs hypothalamic-pituitary-adrenal axis expression of habituation. *J Neuroendocrinol* 2000;12:1034–42.
83. Luger A, Deuster PA, Kyle SB, Gallucci WT, Montgomery LC, Gold PW, et al. Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. *N Engl J Med* 1987;316:1309-15.
84. Chennaoui M, Gomez Merino D, Lesage J, Drogou C, Guezennec CY. Effects of moderate and intensive training on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rats. *Acta Physiol Scand* 2002;175(2):113-21.
85. Hackney AC, Viru A. Twenty-four-hour cortisol response to multiple daily exercise sessions of moderate and high intensity. *Clin Physiol* 1999;19(2):178-82.
86. Atlaoui D, Duclos M, Gouarne C, Lacoste L, Barale F, Chatard JC. The 24-h urinary cortisol/cortisone ratio for monitoring training in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:218-24.
87. Duclos M, Tabarin A. Exercise and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Front Horm Res* 2016;47:12-26.
88. Nindl BC, Kraemer WJ, Deaver DR, Peters JL, Marx JO, Heckman JT, et al. LH secretion and testosterone concentrations are blunted after resistance exercise in men. *J Appl Physiol* (1985) 2001;91:1251-8.
89. Traustadottir T, Bosch PR, Matt KS. The HPA axis response to stress in women: effects of aging and fitness. *Psychoneuroendocrinol* 2005;30:392–402.
90. Angeli A, Minetto M, Dovio A, Paccotti P. The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder. *J Endocrinol Invest* 2004;27(6):603–12.
91. Lehmann MJ, Lormes W, Opitz-Gress A, Steinacker JM, Netzer N, Foster C, et al. Training and overtraining: an overview and experimental results in endurance sports. *J Sports Med. Phys. Fit* 1997;37:7–17.
92. Meeusen R, Duclos M, Gleeson M, Rietjens G, Steinacker J, Urhausen A. Prevention, diagnosis and treatment of the overtraining syndrome: ECSS Position Statement ‘Task Force’. *Eur J Sport Sci* 2006;6(1):1–14.
93. Fry, AC.; Steinacker, JM.; Meeusen, R. Endocrinology of overtraining. U: Kraemer, WJ.; Rogol, AD., urednici. *The endocrine system in sports and exercise*. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2005. p. 578p. 584-93.
94. Walker BR. Glucocorticoids and cardiovascular disease. *Eur J Endocrin* 2007;157:545-59.
95. Kayes-Wandover KM, White PC. Steroidogenic enzyme gene expression in the human heart. *J Clin Endocrin Metab* 2000;85:2519-25.
96. Stewart PM. The Adrenal Cortex. U: Kronenberg HM, Sholmo M, Polonsky KS, Larsen PR urednivači. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11th ed. Philadelphia, USA: Saunders Elsevier, 2008:456-8.

97. Dallman M, Strack A, Akana S, et al. Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insuline in daily energy flow. *Front Neuroendocrinol* 1993;14:303-47.
98. Chrousos GP, Kino T. Glucocorticoid signaling in the cell. Expanding clinical implications to complex human behavioral and somatic disorders. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:153-66.
99. Reul JM, de Kloet ER. Two receptor systems for corticosterone in the rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 1985;117:2505-11.
100. Paust HJ, Loeper S, Else T, Bamberger AM, Papadopoulos G, Pankoke D, et al. Expression of the glucocorticoid receptor in the human adrenal cortex. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114(1):6-10.
101. Damjanovic SS¹, Antic JA, Ilic BB, Cokic BB, Ivovic M, Ognjanovic SI, et al. Glucocorticoid receptor and molecular chaperones in the pathogenesis of adrenal incidentalomas: potential role of reduced sensitivity to glucocorticoids. *Mol Med* 2013 Jan 22;18:1456-65.
102. Briassoulis G, Damjanovic S, Xekouki P, Lefebvre H, Stratakis CA. The glucocorticoid receptor and its expression in the anterior pituitary and the adrenal cortex: a source of variation in hypothalamic-pituitary-adrenal axis function; implications for pituitary and adrenal tumors. *Endocr Pract* 2011 Nov-Dec;17(6):941-8.
103. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrin Rew* 1996;17(3):245-61.
104. Revollo JR, Cidlowski JA. Mechanisms generating diversity in glucocorticoid receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:167-78.
105. Yudt MR, Cidlowski JA. The glucocorticoid receptor: coding a diversity of proteins and responses through a single gene. *Mol Endocrin* 2002;16(8):1719-1726.
105. Zhou J, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses. *Steroids* 2005;70:407-17.
106. van Rossum EF, Lamberts SW. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:333-57.
107. Manenschijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An Overview. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:179-98.
108. van Rossum EFC, Binder EB, Majer M, Koper JW, Ising M, Modell S, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene and major depression. *Psychiatry* 2006;59:681-88.
109. Wust S, van Rossum EFC, Federenko I, Koper JW, Kumsta R, Hellhammer D. Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):565-73.
110. Kumsta R, Entringer S, Koper JW, van Rossum EFC, Hellhammer DH, Wust S. Sex specific associations between common glucocorticoid receptor gene variants and

- hypothalamus-pituitary-adrenal axis responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry* 2007;62(8):863-9.
111. Peijie C, Zicai D, Haowen X, Renbao X. Effects of chronic and acute training on glucocorticoid receptors concentrations in rats. *Life Sci* 2004;75(11):1303-11.
112. Peijie C, Renbao X, Xinming T. Long-term endurance training induced changes in glucocorticoid receptors concentrations in rat and in man. *J Sports Med Phys Fitness*. 2004;44(3):322-7.
113. Bonifazi M, Mencarelli M, Fedele V, Ceccarelli I, Pecorelli A, Grasso G, et. al. Glucocorticoid receptor mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells in high trained compared to low trained athletes and untrained subjects. *J Endocrinol Invest* 2009;32(10):816-20.
114. Patel PD, Lopez JF, Lyons DM, Burke S, Wallace M, Schatzberg AF, Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in squirrel monkey brain. *J Psychiatr Res* 2001;34:383-92.
115. de Kloet ER, Reul JM. Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: a conceptualising from the heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinology* 1987;12:83-105.
116. Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joëls M. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling. *Mol Cell Endocrinol* 2012;250:299-309.
117. Mifsud KR, Reul JM. Acute stress enhances heterodimerization and binding of corticosteroid receptors at glucocorticoid target genes in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(40):11336-41.
118. Funder JW. Mineralocorticoid receptors: distribution and activation. *Heart Fail Rev* 2005;10:15-22.
119. Ferrari P. The role of 11-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human hypertension. *Biochim Biophys Acta* 2010;1802:1178-87.
120. Marzolla V, Armani A, Zennaro MC, Cinti F, Mammi C, Fabbri A, et al. The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 2012;24:281-8.
121. Rickard AJ, Morgan J, Tesch G, Funder JW, Fuller PJ, Young MJ. Deletion of mineralocorticoid receptors from macrophages protects against deoxycorticosterone/salt-induced cardiac fibrosis and increased blood pressure. *Hypertension* 2009;54:537-43.
122. Lai M, Horsburgh K, Bae SE, Carter RN, Stenvers DJ, Fowler JH, et al. Forebrain mineralocorticoid receptor overexpression enhances memory, reduces anxiety and attenuates neuronal loss in cerebral ischaemia. *Eur J Neurosci* 2007;25:1832-42.
123. Giordano R, Bo M, Pellegrino M, Vezzari M, Baldi M, Picu A, et al. Hypothalamus-pituitary-adrenal hyperactivity in human aging is partially refractory to stimulation by mineralocorticoid receptor blockade. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5656-62.

124. Viengchareun S, Le Menuet D, Martinerie L, Munier M, Pascual-Le Tallec L, Lombès M. The mineralocorticoid receptor: insights into its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl Recept Signal* 2007;5:e012.
125. van Leeuwen N, Kumsta R, Entringer S, de Kloet ER, Zitman FG, Derijk RH, et al. Functional mineralocorticoid receptor (MR) gene variation influences the cortisol awakening response after dexamethasone. *Psychoneuroendocrinology* 2010;35:339-49.
126. DeRijk RH, de Kloet ER, Zitman FG, van Leeuwen N. Mineralocorticoid receptor gene variants as determinants of HPA axis regulation and behavior. *Endocr Dev* 2011;20:137-48.
127. DeRijk RH, Wust S, Meijer OC, Zennaro M-C, Federenko IS, Hellhammer DH, et al. A common polymorphism in the mineralocorticoid receptor modulates stress responsiveness. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:5083-9.
128. van Leeuwen N, Caprio M, Blaya C, Fumeron F, Sartorato P, Ronconi V, et al. The functional c.-2G>C variant of the mineralocorticoid receptor modulates blood pressure, renin, and aldosterone levels. *Hypertension* 2010; 56:995–1002.
129. Klok MD, Giltay EJ, Van der Does AJ, Geleijnse JM, Antypa N, Penninx BW, et al. A common and functional mineralocorticoid receptor haplotype enhances optimism and protects against depression in females. *Transl. Psychiatry* 2011;1:e62.
130. Muhtz C, Zyriax BC, Bondy B, Windler E, Otte C. Association of a common mineralocorticoid receptor gene polymorphism with salivary cortisol in healthy adults. *Psychoneuroendocrinology* 2011;36:298-301.
131. van Leeuwen N, Bellingrath S, de Kloet ER, Zitman FG, DeRijk RH, Kudielka BM. Human mineralocorticoid receptor (MR) gene haplotypes modulate MR expression and transactivation: implication for the stress response. *Psychoneuroendocrinology* 2011;36:699-709.
132. Ising M, Depping AM, Siebertz A, Lucae S, Unschuld PG, Kloiber S, et al. Polymorphisms in the FKBP5 gene region modulate recovery from psychosocial stress in healthy controls. *Eur J Neurosci* 2008;28:389-398.
133. Cone RD. Studies on the physiological studies of the melanocortin system. *Endocrine Reviews* 2006;27:736–7.
134. Voisey J, Carroll L, van Daal A. Melanocortins and their receptors and antagonists. *Curr Drug Targets* 2003;4(7):586–97.
135. Clark AJ, Metherell LA. Mechanisms of disease: the adrenocorticotropin receptor and disease. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006;2(5):282-90.
136. Bicknell AB, Lomthaisong K, Woods RJ, Hutchinson EG, Bennett HP, Gladwell RT, et al. Characterization of a serine protease that cleaves pro- γ -melanotropin at the adrenal to stimulate growth. *Cell* 2001;105(7):903–12.
137. Proudnikov D, Hamon S, Ott J, Kreek MJ. Association of polymorphisms in the melanocortin receptor type 2 (MC2R, ACTH receptor) gene with heroin addiction. *Neurosci Lett* 2008;435(3):234–239.
138. Liu ZL, He B, Fang F, Tang CY, Zou LP. Genetic polymorphisms of MC2R gene associated with responsiveness to adrenocorticotropin hormone therapy in infantile spasms. *Chin Med J (Engl)* 2008;121(17):1627-32.

139. Ding YX, Zou LP, He B, Yue WH, Liu ZL, Zhang D. ACTH receptor (MC2R) promoter variants associated with infantile spasms modulate MC2R expression and responsiveness to ACTH. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20(2):71-6.
140. Slawik M, Reisch N, Zwermann O, Maser-Gluth C, Stahl M, Klink A, et al. Characterization of an adrenocorticotropin (ACTH) promoter polymorphism leading to a decreased adrenal responsiveness to ACTH. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3131–7.
141. Lappalainen S, Utriainen P, Kuulasmaa T, Voutilainen R, Jääskeläinen J. ACTH receptor promoter polymorphism associates with severity of premature adrenarche and modulates hypothalamopituitary-adrenal axis in children. *Pediatr Res* 2008;63(4):410–14.
142. Reisch N, Slawik M, Zwermann O, Beuschlein F, Reincke M. Genetic influence of and ACTH receptor promoter polymorphism on adrenal androgen secretion. *Eur J Endocrinol.* 2005;153(5):711-5.
143. Mitchell JH, Haskell W, Snell P, et al. Classification of Sports. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(8):1364-7.
144. ATS/ACC/AHA 2002 Guideline Update for Exercise Testing: Summary Article. A Report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1997 Exercise Testing Guidelines). *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(8):1531-40.
145. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training. *Sports Med* 2005;35(4):339-61.
146. Van Reeth O, Sturis J, Byrne MM, Blackman JD, L'Hermite-Balériaux M, Leproult R, et al. Nocturnal Exercise Phase Delays Circadian Rhythms of Melatonin and Thyrotropin Secretion in Normal Men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1994;266(29):E964-74.
147. Minetto MA, Lanfranco F, Baldi M, Termine A, Kuipers H, Ghigo E, et al. Corticotroph axis sensitivity after exercise: comparison between elite athletes and sedentary subjects. *J Endocrinol Invest* 2007;30(3):215-23.
148. Urhausen A, Gabriel H, Kindermann W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Med* 1995;20(4):251-276.
149. Salvador A, Suay F, González-Bono E, Serrano MA. Anticipatory cortisol, testosterone and psychological responses to judo competition in young men. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28(3):364-75.
150. Meyer VJ, Lee Y, Böttger C, Leonbacher U, Allison AL, Shirtcliff EA. Experience, cortisol reactivity, and the coordination of emotional responses to skydiving. *Front Hum Neurosci* 2015;25:9:138.
151. Obminski Z, Stupnicki R, Lerczak K, Starczewska-Czapowska J, Olszewska-Lelonkiewicz M, Hackney AC. Cortisol and testosterone responses to training and competition stress in ice-dance skaters – a case study. *So African J Sports Med* 2002;9:23–25.

152. Loucks AB, Thuma JR. Luteinizing hormone pulsatility is disrupted at a threshold of energy availability in regularly menstruating women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(1):297-311.
153. Hill EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru A, Hackney AC. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *J Endocrinol Invest* 2008;31(7):587-91.
154. Raastad T, Bjørø T, Hallén J. Hormonal Responses to High- and Moderate-Intensity Strength Exercise. *Eur J Appl Physiol* 2000;82:121-28.
155. Stewart PM. The adrenal cortex. U: Kronenberg HM, Sholmo M, Polonsky KS, Larsen PR uređivači. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11. izdanje. Philadelphia, USA: Saunders Elsevier, 2008:456-458.
156. Hackney AC. Stress and the neuroendocrine system: the role of exercise as a stressor and modifier of stress. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2006;1(6):783-792.
157. Minetto MA, Paccotti P, Borrione P, Massazza G, Ventura M, Termine A, et al. Effects of the training status on the hormonal response and recovery from high-intensity isokinetic exercise: comparisons between endurance-trained athletes and sedentary subjects. *J Sports Med Phys Fitness* 2006;46(3):494-500.
158. Lusa Cadore E, Lhullier FL, Arias Brentano M, Marczewski Da Silva E, Bueno Ambrosini M, Spinelli R, et al. Salivary Hormonal Responses to Resistance Exercise in Trained and Untrained Middle-Aged Men. *J Sports Med Phys Fitness* 2009 Sep;49(3):301-7.
158. Paccotti P, Minetto M, Terzolo M, Ventura M, Ganzit GP, Borrione P, et al. Effects of high-intensity isokinetic exercise on salivary cortisol in athletes with different training schedules: relationships to serum cortisol and lactate. *Int J Sports Med* 2005 Nov;26(9):747-55.
159. Purge P, Jürimäe J, Jürimäe T. Hormonal and psychological adaptation in elite male rowers during prolonged training. *J Sports Sci* 2006;24(10):1075-82.
160. Meeusen R, Piacentini MF, Busschaert B, Buyse L, De Schutter G, Stray-Gundersen J. Hormonal responses in athletes: the use of a two bout exercise protocol to detect subtle differences in (over)training status. *Eur J Appl Physiol* 2004;91(2-3):140-6.
161. Conlee RK, Rennie MJ, Winder WW. Skeletal muscle glycogen content: diurnal variation and effects of fasting. *Am J Physiol* 1976;231(2):614-18.
162. Galassetti P, Mann S, Tate D, Neill RA, Wasserman DH, Daviss SN. Effect of morning exercise on counterregulatory responses to subsequent, afternoon exercise. *J Appl Physiol* 2001;91:91-99.
163. Urhausen A, Kindermann W (2002). Diagnosis of overtraining. What tools do we have? *Sports Medicine*, 32:95-102.
164. Winder WW, Hagberg JM, Hickson RR, Ehsani AA, McLane JA. Time course of sympathoadrenergic adaptation to endurance exercise training in man. *J. Appl. Physiol* 1978;45:370-374.

165. González-Cabrera J, Fernández-Prada M, Iribar-Ibabe C, Peinado JM. Acute and chronic stress increase salivary cortisol: a study in the real-life setting of a national examination undertaken by medical graduates. *Stress* 2014;17(2):149-56.
166. Adam EK, Hawkley LC, Kudielka BM, Cacioppo JT. Day-to-day dynamics of experience--cortisol associations in a population-based sample of older adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(45):17058-63.
167. Duan H, Yuan Y, Zhang L, Qin S, Zhang K, Buchanan TW, Wu J. Chronic stress exposure decreases the cortisol awakening response in healthy young men. *Stress* 2013;16(6):630-7.
168. van Doornen LJ, de Geus EJ, Orlebeke JF. Aerobic fitness and the physiological stress response: a critical evaluation. *Soc Sci Med* 1988;26(3):303-7.
169. Traustadottir T, Bosch PR, Matt KS. The HPA axis response to stress in women: effects of aging and fitness. *Psychoneuroendocrinol* 2005;30:392-402.
170. de Geus EJ, van Doornen LJ, Orlebeke JF. Regular exercise and aerobic fitness in relation to psychological make-up and physiological stress reactivity. *Psychosom Med* 1993;55(4):347-63.
171. Klaperski S, von Dawans B, Heinrichs M, Fuchs R. Does the level of physical exercise affect physiological and psychological responses to psychosocial stress in women? *Psychol Sport Exerc* 2013;14:266-274.
172. Pacák K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 2001;22(4):502-48.
173. McLellan SA, Walsh TS. Oxygen delivery and haemoglobin. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain* 2004;4:123-6.
174. Leach RM, Treacher DF. The pulmonary physician in critical care * 2: oxygen delivery and consumption in the critically ill. *Thorax* 2002;57(2):170-7.
175. Boisseau N, Enea C, Diaz V, Dugué B, Corcuff JB, Duclos M. Oral contraception but not menstrual cycle phase is associated with increased free cortisol levels and low hypothalamo-pituitary-adrenal axis reactivity. *J Endocrinol Invest.* 2013;36(11):955-64.
176. Kern W, Perras B, Wodick R, Fehm HL, Born J. Hormonal secretion during nighttime sleep indicating stress of daytime exercise. *J Appl Physiol* 1995;79:1461-68.
177. Duclos M, Gouarne C, Bonnemaïson D. Acute and Chronic Effects of Exercise on Tissue Sensitivity to Glucocorticoids. *J Appl Physiol* 2003;94:869-75.
178. Duclos M, Corcuff JB, Pehourcq F, Tabarin A. Decreased Pituitary Sensitivity to Glucocorticoids in Endurance-Trained Men. *Eur J Endocrinol* 2001;144(4):363-68.
179. Duclos M, Corcuff JB, Rashedi M, Fougère V, Manier G. Trained versus untrained men: different immediate post-exercise responses of pituitary adrenal axis. A preliminary study. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1997;75(4):343-50.
180. Wittert GA, Livesey JH, Espiner EA, Donald RA. Adaptation of the Hypothalamopituitary Adrenal Axis to Chronic Exercise Stress in Humans. *Med Sci Sport Exerc* 1996;28(8):1015-1019.
181. Droste SK, Chandramohan Y, Hill LE, Linthorst AC, Reul JM. Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. *Neuroendocrinology* 2007;86(1):26-37.

182. Campbell JE, Rakhshani N, Fediuc S, Bruni S, Riddell MC. Voluntary Wheel Running Initially Increases Adrenal Sensitivity to Adrenocorticotrophic Hormone, Which is Attenuated With Long-Term Training. *J Appl Physiol* 2009;106:66-72.
183. Smoak B, Deuster P, Rabin D, Chrousos GP. Corticotropin-Releasing Hormone is Not the Sole Factor Mediating Exercise-Induced Adrenocorticotropin Release in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:302-6.
184. Engeland WC, Arnhold MM. Neural circuitry in the regulation of adrenal corticosterone rhythmicity. *Endocrine* 2005;28(3):325-32.
185. Rhodes JS, Hosack GR, Girard I, Kelley AE, Mitchell GS, Garland T Jr. Differential sensitivity to acute administration of cocaine, GBR 12909, and fluoxetine in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;158(2):120-31.
186. Lowrance SA, Ionadi A, McKay E, Douglas X, Johnson JD. Sympathetic nervous system contributes to enhanced corticosterone levels following chronic stress. *Psychoneuroendocrinology* 2016;68:163-70.
187. Park E, Chan O, Li Q, Kiraly M, Matthews SG, Vranic M, et al. Changes in basal hypothalamo-pituitary-adrenal activity during exercise training are centrally mediated. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;289(5):R1360-71.
188. Grasso G, Lodi L, Lupo C, Muscettola M. Glucocorticoid Receptors in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells in Relation to Age and to Sport Activity. *Life Sci* 1997; 61(3):301-308.
189. Gouarné C, Groussard C, Gratas-Delamarche A, Delamarche P, Duclos M. Overnight urinary cortisol and cortisone add new insights into adaptation to training. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37(7):1157-67.
190. Anderson T, Lane AR, Hackney AC. The Cortisol Awakening Response is Associated with Training Load in Endurance Runners. *Int J Sports Physiol Perform* 2018;27:1-21.
191. Kallen VL, Stubbe JH, Zwolle HJ, Valk P. Capturing effort and recovery: reactive and recuperative cortisol responses to competition in well-trained rowers. *BMJ Open Sport Exerc Med* 2017;3(1):e000235.
192. Cadegiani FA, Kater CE. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis Functioning in Overtraining Syndrome: Findings from Endocrine and Metabolic Responses on Overtraining Syndrome (EROS)-EROS-HPA Axis. *Sports Med Open* 2017;3(1):45.
193. Anderson T, Wideman L. Exercise and the Cortisol Awakening Response: A Systematic Review. *Sports Med Open* 2017;3(1):37.
194. Vreeburg SA, Zitman FG, van Pelt J, Derijk RH, Verhagen JC, van Dyck R, et al. Salivary cortisol levels in persons with and without different anxiety disorders. *Psychosom Med* 2010;72(4):340-7.
195. Dietrich A, Ormel J, Buitelaar JK, Verhulst FC, Hoekstra PJ, Hartman CA. Cortisol in the morning and dimensions of anxiety, depression, and aggression in children from a general population and clinic-referred cohort: An integrated analysis. The TRAILS study. *Psychoneuroendocrinology* 2013;38(8):1281-98.

196. Vreeburg SA, Hoogendijk WJ, van Pelt J, Derijk RH, Verhagen JC, van Dyck R, et al. Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66(6):617-26.
197. Ströhle A, Holsboer F. Stress responsive neurohormones in depression and anxiety. *Stress responsive neurohormones in depression and anxiety. Pharmacopsychiatry* 2003;36 Suppl 3:S207-14.
198. Morris MC, Compas BE, Garber J. Relations among posttraumatic stress disorder, comorbid major depression, and HPA function: a systematic review and meta-analysis. *Clin Psychol Rev* 2012;32(4):301-15.
199. Hardeveld F, Spijker J, Vreeburg SA, Graaf RD, Hendriks SM, Licht CM, et al. Increased cortisol awakening response was associated with time to recurrence of major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2014;50:62-71.
200. Strüder HK, Hollmann W, Platen P, Rost R, Weicker H, Kirchhof O, et al. Neuroendocrine system and mental function in sedentary and endurance-trained elderly males. *Int J Sports Med* 1999;20(3):159-66.
201. Nijdam MJ, van Amsterdam JG, Gersons BP, Olf M. Dexamethasone-suppressed cortisol awakening response predicts treatment outcome in posttraumatic stress disorder. *J Affect Disord*. 2015;184:205-8.
202. Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev* 1996;17(3):245-61.
203. Kino T, de Martino MU, Charmandari E, Mirani M, Chrousos GP. Tissue glucocorticoid resistance/hypersensitivity syndromes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;85:457-67.
204. Kino T. Tissue glucocorticoid sensitivity: beyond stochastic regulation on the diverse actions of glucocorticoids. *Horm Metab Res*. 2007;39(6):420-4.
205. Yudit MR, Cidlowski JA. The glucocorticoid receptor: Coding a diversity of proteins and responses through a single gene. *Mol Endocrinol* 2002;16(8):1719-26.
206. DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;81(2):103-22.
207. Manenshijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1179:179-98.
208. Murray JC, Smith RF, Ardinger HA, Weinberger C. RFLP for the glucocorticoid receptor (GRL) located at 5q11-5q13. *Nucleic Acids Res* 1987;15(16):6765.
209. Fleury I, Beaulieu P, Primeau M, Labuda D, Sinnett D, Krajcinovic M. Characterization of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene. *Clin Chem* 2003;49(9):1528-31.
210. Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Perusse L, Lindell K, et al. A glucocorticoid receptor gene marker is associated with abdominal obesity, leptin, and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obes Res* 2000;8(3):211-8.

211. Tremblay A, Bouchard L, Bouchard C, Després JP, Drapeau V, Pérusse L. Long-term adiposity changes are related to glucocorticoid receptor polymorphism in young females. *J Clin Endocrinol Metabol* 2003;88(7):3141-5.
212. Ukkola O, Pérusse L, Chagnon YC, Després JP, Bouchard C. Interactions among the glucocorticoid receptors, lipoprotein lipase and adrenergic receptor genes and abdominal fat in the Quebec Family Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25(9):1332-9.
213. Weaver JU, Hitman GA, Kopelman PG. An association between a *BCII* restriction fragment length polymorphism of the glucocorticoid receptor locus and hyperinsulinemia in obese women. *J Mol Endocrinol* 1992;9:295-300.
214. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, Uitterlinden AG, Arp P, Ester W, et al. Identification of the *BclI* polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: Association with sensitivity to glucocorticoids *in vivo* and body mass index. *Clin Endocrinol* 2003;59:585-592.
215. Clément K, Philippi A, Jury C, Pividal R, Hager J, Demenais F, Basdevant A, et al. Candidate gene approach of familial morbid obesity: linkage analysis of the glucocorticoid receptor gene. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20(6):507-12.
216. Panarelli M, Holloway CD, Fraser R, Connell JM, Ingram MC, Anderson NH, et al. Glucocorticoid receptor polymorphism, skin vasoconstriction and other metabolic intermediate phenotypes in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metabol* 1998;83(6):1846-1852.
217. Kumsta R, Entringer S, Koper JW, van Rossum EF, Hellhammer DH, Wüst S. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and glucocorticoid sensitivity of subdermal blood vessels and leukocytes. *Biol Psychol* 2008;79(2):179-84.
218. Di Blasio AM, van Rossum EF, Maestrini S, Berselli ME, Tagliaferri M, Podestà F, et al. The relation between two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and body mass index, blood pressure and cholesterol in obese patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59(1):68-74.
219. Boyle B, Korányi K, Patocs A, Liko I, Szappanos A, Bertalan R, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene in Graves ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol* 2008;92(1):131-4.
220. De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, Drigo I, Norbedo S, et al. Association of *BclI* polymorphism of the glucocorticoid receptor gene locus with response to glucocorticoids in inflammatory bowel disease. *Gut* 2007;56(9):1319-20.
221. Decorti G, De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, Drigo I, et al. Glucocorticoid receptor polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 2006;55(7):1053-4.
222. Lee EB, Kim JY, Lee YJ, Song YW. Glucocorticoid receptor polymorphisms in Korean patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(3):503-4.
223. Donn R, Payne D, Ray D. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;67(3):342-5.
224. van Oosten MJ, Dolhain RJ, Koper JW, van Rossum EF, Emonts M, et al. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene that modulate glucocorticoid sensitivity are associated with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2010;12(4):R159.

225. Herrera C, Marcos M, Carbonell C, Mirón-Canelo JA, Espinosa G, Cervera R, et al. Association between allelic variants of the human glucocorticoid receptor gene and autoimmune diseases: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2018 May;17(5):449-456.
226. van Rossum EF, Binder EB, Majer M, Koper JW, Ising M, Modell S, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene and major depression. *Biol Psychiatry* 2006;59(8):681-8.
227. Zobel A, Jessen F, von Widdern O, Schuhmacher A, Höfels S, Metten M, et al. Unipolar depression and hippocampal volume: impact of DNA sequence variants of the glucocorticoid receptor gene. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;5;147B(6):836-43.
228. Krishnamurthy P, Romagni P, Torvik S, Gold PW, Charney DS, Detera-Wadleigh S, Cizza G; P.O.W.E.R. (Premenopausal, Osteoporosis Women, Alendronate, Depression) Study Group. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in premenopausal women with major depression. *Horm Metab Res* 2008;40(3):194-8.
229. Spijker AT, van Rossum EF. Glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. Focus on glucocorticoid sensitivity and neurocognitive functioning. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:199-215.
230. Brouwer JP, Appelhof BC, van Rossum EF, Koper JW, Fliers E, Huyser J, et al. Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology* 2006;31(10):1154-63.
231. Bachmann AW, Sedgley TL, Jackson RV, Gibson JN, Young RM, Torpy DJ. Glucocorticoid receptor polymorphisms and post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30(3):297-306.
232. Castro-Vale I, van Rossum EF, Machado JC, Mota-Cardoso R, Carvalho D. Genetics of glucocorticoid regulation and posttraumatic stress disorder--What do we know? *Neurosci Biobehav Rev* 2016;63:143-57.
233. Lian Y, Xiao J, Wang Q, Ning L, Guan S, Ge H, et al. The relationship between glucocorticoid receptor polymorphisms, stressful life events, social support, and post-traumatic stress disorder. *BMC Psychiatry* 2014;14:232.
234. Bachmann AW, Sedgley TL, Jackson RV, Gibson JN, Young RM, Torpy DJ. Glucocorticoid receptor polymorphisms and post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30(3):297-306.
235. Rautanen A, Eriksson JG, Kere J, Andersson S, Osmond C, Tienari P, et al. Associations of body size at birth with late-life cortisol concentrations and glucose tolerance are modified by haplotypes of the glucocorticoid receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(11):4544-51.
236. Stevens A, Ray DW, Zeggini E, John S, Richards HL, Griffiths CE, et al. Glucocorticoid sensitivity is determined by a specific glucocorticoid receptor haplotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:892-7.
237. Souza MC, Martins CS, Silva-Junior IM, Chriguier RS, Bueno AC, Antonini SR, et al. NR3C1 polymorphisms in Brazilians of Caucasian, African, and Asian ancestry:

- glucocorticoid sensitivity and genotype association. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(1):53-61.
238. Savic D, Knezevic G, Damjanovic S, Antic J, Matic G. GR gene BclII polymorphysm changes the path, but not the level, of dexamethasone-induced cortisol suppression. *J Affect Disord* 2014;168:1-4.
239. Rutters F, Nieuwenhuizen AG, Lemmens SG, Bouwman F, Mariman E, Westerterp-Plantenga MS. Associations between anthropometrical measurements, body composition, single-nucleotide polymorphisms of the hypothalamus/pituitary/adrenal (HPA) axis and HPA axis functioning. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;74(6):679-86.
240. Koper JW, Stolk RP, de Lange P, Huizenga NA, Molijn GJ, Pols HA, et al. Lack of association between five polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene and glucocorticoid resistance. *Hum Genet* 1997;99(5):663-8.
241. Lin RC, Wang WY, Morris BJ. High penetrance, overweight, and glucocorticoid receptor variant: case-control study. *BMJ* 1999;319(7221):1337-8.
242. Dobson MG, Redfern CP, Unwin N, Weaver JU. The N363S polymorphism of the glucocorticoid receptor: potential contribution to central obesity in men and lack of association with other risk factors for coronary heart disease and diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(5):2270-4.
243. Roussel R, Reis AF, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, Timsit J, Velho G. The N363S polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with overweight in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59(2):237-41.
244. Huizenga N, Koper JW, de Lange P, et al. A Polymorphism in the Glucocorticoid Receptor Gene May Be Associated with an Increased Sensitivity to Glucocorticoids *in Vivo*. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(1):144-151.
245. Echwald SM, Sørensen TI, Andersen T, Pedersen O. The Asn363Ser variant of the glucocorticoid receptor gene is not associated with obesity or weight gain in Danish men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25(10):1563-5.
246. Rosmond R, Bouchard C, Björntorp P. Tsp509I polymorphism in exon 2 of the glucocorticoid receptor gene in relation to obesity and cortisol secretion: cohort study. *BMJ* 2001;322(7287):652-3.
247. Marti A, Ochoa MC, Sánchez-Villegas A, Martínez JA, Martínez-González MA, Hebebrand J, et al. Meta-analysis on the effect of the N363S polymorphism of the glucocorticoid receptor gene (GRL) on human obesity. *BMC Med Genet* 2006;7:50.
248. Kuningas M, Mooijaart SP, Slagboom PE, Westendorp RG, van Heemst D. Genetic variants in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and cardiovascular disease risk. The Leiden 85-plus Study. *Biogerontology* 2006;7(4):231-8.
249. van Winsen LM, Hooper-van Veen T, van Rossum EF, Koper JW, Barkhof F, Polman CH, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with more aggressive disease phenotype in MS. *J Neuroimmunol* 2007;186(1-2):150-5.
250. van Oosten MJ, Dolhain RJ, Koper JW, van Rossum EF, Emonts M, Han KH, et al. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene that modulate glucocorticoid

- sensitivity are associated with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(4):R159.
251. Derijk RH, Schaaf MJ, Turner G, Datson NA, Vreugdenhil E, Cidlowski J, et al. A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2001;28(11):2383-8.
252. van den Akker EL, Russcher H, van Rossum EF, Brinkmann AO, de Jong FH, Hokken A, et al. Glucocorticoid receptor polymorphism affects transrepression but not transactivation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2800-3.
253. Syed AA, Irving JA, Redfern CP, Hall AG, Unwin NC, White M, et al. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G in exon 9beta with reduced central adiposity in women. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14(5):759-64.
254. van den Akker EL, Koper JW, van Rossum EF, Dekker MJ, Russcher H, de Jong FH, et al. Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 2008;168(1):33-9.
255. Varricchio L, Masselli E, Alfani E, Battistini A, Migliaccio G, Vannucchi AM, et al. The dominant negative β isoform of the glucocorticoid receptor is uniquely expressed in erythroid cells expanded from polycythemia vera patients. *Blood* 2011;118(2):425-36.
256. Poletto V, Rosti V, Villani L, Catarsi P, Carolei A, Campanelli R, et al. A3669G polymorphism of glucocorticoid receptor is a susceptibility allele for primary myelofibrosis and contributes to phenotypic diversity and blast transformation. *Blood* 2012;120(15):3112-7.
257. Costache RM, Bănescu C, Popp RA, Pop IV, Trifa AP. The glucocorticoid receptor A3669G SNP is not associated with polycythemia vera, essential thrombocythemia or primary myelofibrosis. *Leuk Lymphoma* 2016;57(1):209-11.
258. Spijker AT, van Rossum EF, Hoencamp E, DeRijk RH, Haffmans J, Blom M, et al. Functional polymorphism of the glucocorticoid receptor gene associates with mania and hypomania in bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2009;11(1):95-101.
259. Li-Tempel T, Larra MF, Winnikes U, Tempel T, DeRijk RH, Schulz A, et al. Polymorphisms of genes related to the hypothalamic-pituitary-adrenal axis influence the cortisol awakening response as well as self-perceived stress. *Biol Psychol* 2016;119:112-21.
260. Patel PD, Lopez JF, Lyons DM, Burke S, Wallace M, Schatzberg AF. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in squirrel monkey brain. *J Psychiatr Res* 2000;34(6):383-92.
261. de Kloet ER, Reul JM. Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: a concept arising from the heterogeneity of brain receptor systems. *Psychoneuroendocrinology* 1987;12:83-105.
262. de Kloet ER, DeRijk RH, Meijer OC. Therapy insight: is there an imbalanced response of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in depression? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3:168-79.

263. Karst H, Berger S, Turiault M, Tronche F, Schutz G, Joels M. Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2005;102:19204-7.
264. Karst H, Berger S, Erdmann G, Schutz G, Joels M. Metaplasticity of amygdalar responses to the stress hormone corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2010;107:14449-54.
265. Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joëls M. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at the neuronal membrane, regulators of nongenomic corticosteroid signalling. *Mol Cell Endocrinol* 2012;250:299-309.
266. Joëls M, Karst H, DeRijk R, de Kloet ER. The coming out of the brain mineralocorticoid receptor. *Trends Neurosci* 2008;31:1-7.
267. Nystrom AM, Bondeson ML, Skanke N, Martensson J, Stromberg B, Gustafsson J, et al. A novel nonsense mutation of the mineralocorticoid receptor gene in a Swedish family with pseudohypoaldosteronism type I (PHA1). *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:227-231.
268. Kuningas M, de Rijk RH, Westendorp RG, Jolles J, Slagboom PE, van Heemst D. Mental performance in old age dependent on cortisol and genetic variance in the mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Neuropsychopharmacology* 2007;32(6):1295-301.
269. Arai K, Nakagomi Y, Iketani M, Shimura Y, Amemiya S, Ohyama K, et al. Functional polymorphisms in the mineralocorticoid receptor and amiloride-sensitive sodium channel genes in a patient with sporadic pseudohypoaldosteronism. *Hum Genet.* 2003;112(1):91-7.
270. DeRijk RH, van Leeuwen N, Klok MD, Zitman FG. Corticosteroid receptor gene variants: modulators of the stress-response and implications for mental health. *Eur J Pharmacol* 2008;585:492-501.
271. Klok MD, Vreeburg SA, Penninx BW, Zitman FG, de Kloet ER, DeRijk RH. Common functional mineralocorticoid receptor polymorphisms modulate the cortisol awakening response: interaction with SSRIs. *Psychoneuroendocrinology* 2011;36:484-94.
272. Bouma EM, Riese H, Nolte IM, Oosterom E, Verhulst FC, Ormel J, et al. No associations between single nucleotide polymorphisms in corticoid receptor genes and heart rate and cortisol responses to a standardized social stress test in adolescents: the TRAILS study. *Behav Genet* 2011;41(2):253-61.
273. Martinez F, Mansego ML, Escudero JC, Redon J, Chaves FJ. Association of a mineralocorticoid receptor gene polymorphism with hypertension in a Spanish population. *Am J Hypertens* 2009 Jun;22(6):649-55.
274. Ritter AM, Fontana V, Faria AP, Modolo R, Barbaro NR, Sabbatini AR, et al. Association of Mineralocorticoid Receptor Polymorphism I180V With Left Ventricular Hypertrophy in Resistant Hypertension. *Am J Hypertens* 2016;29(2):245-50.

SPISAK SKRAĆENICA

ACTH - adrenokortikotropni hormon

α -MSH - alfa-melanocitno-stimulišući hormon

ATP - adenzin-tri-fosfat

AVP – arginin-vazopresin

β -END- β -endorfin

11 β -HSD1 - 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1

11 β -HSD2 - 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaza tip 2

β -LPH - β -lipotropin

BF – frekvencija disanja (*breathing frequency*)

BZD – benzodiazepine

cAMP – ciklični adenzin monofosfat

CAR – odgovor kortizola prilikom buđenja (*cortisol awakening response*)

CBG – kortizol vezujuć globulin (*cortisol binding globulin*)

CNS – centralni nervni sistem

CRH - oslobađajuć hormon kortikotropina (*corticotropin relasing hormone*)

CRHR1 – CRH-receptor 1

CRP – C reaktivni protein

DAG-diacil glycerol

DHEA - dehidroepiandrosteron

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

E – adrenalin (*epinephrine*)

E2 – estradiol

ENaC - epitelijalni natrijumski kanal

FSH – folikulostimulirajuć hormon

GABA - gama-amino-buterna kiselina

GC - glukokortikoidi

GH – hormon rasta (*growth hormone*)

GHRH- oslobađajuć hormon hormona rasta (*growth hormone relasing hormone*)

GR - glukokortikoidni receptor

GRE – elementi responsivni na glukokortikoide (*glucocorticoid-responsive elements*)

5-HT-serotonin (5-hidroksitriptamin)

HHN - hipotalamo-hipofizno-nadbubrežna osovina
HR – hormon rasta
hsp – proteini toplotnog šoka (*heat shock proteins*)
IL-1 - interleukin-1
IL-6 - interleukin-6
IP3-inozitol-3-fosfat
iRNK – informaciona ribonukleinska kiselina
ITM – indeks telesne mase
LC – locus ceruleus
LH – luteinizirajući hormone
MCR – melanokortinski receptor
MC2-R-melanokortinski receptor tipa2
MR – mineralokortikoidni receptor
NES – neuroendokrini sistem
NE – noradrenalin (*norepinephrine*)
NPY - neuropeptid Y
NTS - nukleus solitarnog trakta
OGTT – test oralnog opterećenja glukozom (*oral glucose tolerance test*)
OR – prekomerna napregnutost (*overreaching*)
OS/OK – odnos obima struka prema obimu kuka
OT – prekomerna utreniranost (*overtraining*)
OTS – sindrom prekomerne utreniranosti
PCR - lančana polimerazna reakcija (*polymerase chain reaction*).
PNS – periferni nervni sistem
POMC – proopio-melano-kortin
PRL – prolaktin
PTSP – posttraumatski stresni poremećaj
PVN – paraventrikularni nucleus
RER – odnos respiratorne razmene (*respiratory exchange ratio*)
RFLP – polimorfizam dužine restrikcionog fragmenta (*restriction fragment length polymorphism*)
SCN – suprahijazmatski nucleus
SGK1 - serumska glukokortikoidima indukovana kinaza
SNP – polimorfizam pojedinačnog nukleotida (*single nucleotide polymorphism*)

SNS - simpatički nervni sistem

SP - supstanca P

SSRI - selektivni inhibitori preuzimanja serotonina (*selective serotonin reuptake inhibitors*)

TNF α - faktor nekroze tumora α

TRH - tireotropin-oslobađajući hormon (*thyrotropin releasing hormone*)

TSH – tireostimulirajući hormon

UFC - urinarni slobodni kortizol (*urinary free cortisol*)

VO₂max – maksimalna potrošnja kiseonika

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Bojana (Milovan) Popović je rođena 05.10.1976. godine u Valjevu, gde je završila osnovnu i srednju školu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala 1995. godine, a završila 2002. sa prosečnom ocenom studiranja 9.54. Magistarsku tezu pod naslovom: “Uticaj genotipa glukokortikoidnog receptora na ehokardiografske parametre, telesni sastav i način aktivacije osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg u akutnom fizičkom stresu kod sportista” odbranila je 2010. godine i stekla zvanje magistra medicinskih nauka za oblast kardiologija. Specijalistički ispit iz interne medicine položila je 2012. godine sa odličnom ocenom. Tokom 2014. godine je upisala užu specijalizaciju iz endokrinologije i 2017. položila usmeni subspecijalistički ispit sa odličnom ocenom. Od 2005. godine je zaposlena u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, na Odeljenju za endokrine tumore i nasledne kancerske sindrome. U zvanje kliničkog asistenta za predmet inerna medicina izabrana je 2016. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu. Autor je ili član autorskog tima u preko 150 publikacija iz oblasti endokrinologije i u 17 radova *in extenso* u časopisima JCR/medline baze podataka. Član je Evropskog udruženja endokrinologa (European Society of Endocrinology – ESE) i Endokrinološke sekcije Srpskog lekarskog društva.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani- **Bojana Popović**

broj upisa _____

Izjavljujem

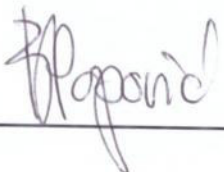
da je doktorska disertacija pod naslovom

Uticaj utreniranosti i polimorfizama u genima za glukokortikoidni, mineralokortikoidni i adrenokortikotropni receptor na fiziološku adaptaciju hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na hronično ponavljani fizički stres

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

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27.04.2018.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **Bojana Popović**

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada **Uticaj utreniranosti i polimorfizama u genima za glukokortikoidni, mineralokortikoidni i adrenokortikotropni receptor na fiziološku adaptaciju hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na hronično ponavljani fizički stres**

Mentor **Prof. dr Svetozar Damajanović**

Potpisani **Bojana Popović**

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

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

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

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27.04.2018.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

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

Uticao utreniranosti i polimorfizama u genima za glukokortikoidni, mineralokortikoidni i adrenokortikotropni receptor na fiziološku adaptaciju hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osovine na hronično ponavljani fizički stres

koja je moje autorsko delo.

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

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

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

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

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27.04.2018.

