

Para entender la acción de cortisol en inflamación aguda: una mirada desde la glándula suprarrenal hasta la célula blanco

JULIA GUERRERO^{1,2,a}

¹Laboratorio de Inmunomodulación Neuroendocrina del Programa Disciplinario de Fisiología y Biofísica. Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

²Unidad de Cuidados Intensivos Adultos. Clínica Alemana de Santiago. Santiago, Chile

^aPhD.

Financiamiento parcial: OAIC 29/04- Hospital Clínico Universidad de Chile.

Recibido el 30 de septiembre de 2016, aceptado el 29 de diciembre de 2016.

Correspondencia a:
Av. Independencia 1027,
Independencia, Santiago, Chile.
jguerrero@med.uchile.cl

Understanding cortisol action in acute inflammation. A view from the adrenal gland to the target cell

Glucocorticoids (cortisol in humans) are essential for numerous biological functions. Among critically ill patients, therapy with cortisol has gained strength in recent years, but clinical results have been mixed. A series of events, that may explain the diversity of clinical responses, occur from the synthesis of cortisol in the adrenal gland to the activation of the cortisol receptor by the hormone when it enters the nucleus of the target cell. Some of these events are revised; a proposition for identifying critically ill patients who may benefit with this therapy is suggested.

(Rev Med Chile 2017; 145: 230-239)

Key words: Adrenal Insufficiency; Critical Care; Hydrocortisone; Receptor, Glucocorticoid.

Al comienzo del siglo XX, experimentos en animales adrenalectomizados desafiados a infección o shock hemorrágico demostraron incremento de la mortalidad¹⁻³. Estos resultados permitieron establecer la relevancia de los corticoesteroides (CE) en los resultados clínicos de enfermedades críticas. Los CE son hormonas esteroidales generadas por la glándula suprarrenal e incluyen, en humanos, glucocorticoides (GC) y mineralocorticoides (MC), cortisol y aldosterona, respectivamente. El concepto de suficiencia de la glándula suprarrenal frente al estrés agudo hace referencia a la suficiente respuesta de cortisol e incluye una serie de eventos biológicos relevantes, tales como síntesis y secreción, transporte hasta el tejido blanco y acción celular. En el presente artículo revisaremos antecedentes que permitirán una mejor comprensión de la acción de cortisol en estrés agudo, como el observado en enfermedades críticas, donde la prescripción de GC pasó desde el uso de dosis elevadas para controlar la

respuesta inflamatoria sistémica, lo que trajo consigo numerosas complicaciones secundarias y su posterior abandono, hasta el resurgimiento a fines de la década 1990-99 con la meta clínica de compensar la inestabilidad circulatoria. Además, nos ayudará a comprender la complejidad y variabilidad de las respuestas clínicas, muy especialmente en el ambiente de los pacientes críticos, donde los resultados han sido diversos, a la fecha, no existe un consenso en relación a la prescripción de GC⁴⁻⁶ y, probablemente, está condicionado, en parte, porque los enfermos críticos son una población heterogénea de situaciones médicas diversas.

Eje hipotálamo-hipofisis-suprarrenal

Los trabajos iniciales de Hans Seyle⁷ permitieron comprender que ante una injuria los organismos desarrollan una reacción de alarma. Esta se

caracteriza por manifestaciones neuroendocrinas estereotipadas que el autor denominó respuesta adaptativa no específica. Sus resultados experimentales demostraron que las glándulas suprarrenales aumentaban de tamaño con descarga de lípidos y pérdida de la cromafinidad de la médula suprarrenal, lo que hizo sostener el rol central de GC y catecolaminas⁷, demostrando por primera vez el rol fundamental del eje hipófisis-corteza suprarrenal en esta respuesta. Este planteamiento puso en duda el concepto “*fight or flight response*” acuñado por WB Cannon⁸ y aceptado en la época. Estudios posteriores de Seyle permitieron el desarrollo de la primera clasificación racional de las hormonas esteroidales^{9,10} y el reconocimiento de acciones anti y proinflamatorias de GC y MC en modelos animales^{11,12}.

En el “síndrome general de adaptación”, la secreción de GC constituye la fase efectora de la unidad funcional hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA). La secreción de cortisol es controlada por el sistema nervioso central, específicamente por neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo, que sintetizan y secretan hormona liberadora de corticotropina (CRH, *corticotropin releasing hormone*) al sistema portal hipofisiario; CRH alcanza neuronas del lóbulo anterior de la hipófisis y las estimula para sintetizar y secretar ACTH (*adrenocorticotropic hormone*) que por vía sanguínea sistémica estimula las células de la corteza suprarrenal, que responden con síntesis y liberación de GC a la circulación sistémica.

Las hormonas esteroidales no son almacenadas en el sitio de producción, por lo que su secreción es regulada por la tasa de síntesis. El paso limitante en la síntesis de cortisol es la conversión de colesterol a pregnenolona, reacción catalizada por citocromo P450_{scc} (CYP11A1 o *cholesterol side-chain cleavage enzyme*). La velocidad de esta reacción depende de la disponibilidad de los componentes en la matriz mitocondrial.

El cortisol regula su propia producción por un mecanismo de retroalimentación negativa. Por vía sanguínea sistémica, el cortisol alcanza el hipotálamo e hipófisis, donde regula en forma negativa la secreción de CRH y ACTH, respectivamente (Figura 1). Por otra parte, la secreción de cortisol presenta variaciones diurnas, esto es, existe una producción máxima de cortisol en las mañanas y la razón exacta de este “ritmo diurno” de cortisol no se conoce con exactitud¹³.

Cortisol

La corteza suprarrenal sintetiza dos clases de esteroides: corticosteroides (GC y MC) con 21 átomos de carbono, y andrógenos, con 19¹⁴. Las acciones biológicas del cortisol son múltiples, comprometen virtualmente a todo el organismo y a varios mecanismos homeostáticos. Las acciones primarias mejor conocidas son metabólicas, pero las acciones fisiológicas también incluyen la función renal y regulación del transporte de iones, sistemas cardiovascular y mantenimiento del tono y permeabilidad vascular, función inmune y acciones en el sistema nervioso central¹⁵.

El cortisol es una molécula lipídica. Su paso por vía sanguínea requiere una proteína transportadora. El transportador clásico de cortisol es la globulina transportadora (GBP, *globulin binding protein*), también denominada transcortina. Esta es una alfa globulina de síntesis hepática y su síntesis está mediada por un factor de transcripción hepático y por estrógenos^{16,17}. Aproximadamente, 15% del cortisol total utiliza albúmina como transportador, también de síntesis hepática¹⁸. Sólo una fracción menor del cortisol sanguíneo total se encuentra no unido a proteínas y es denominada fracción libre de cortisol (Figura 2)^{19,20}.

El cortisol unido a proteínas funciona como un reservorio circulante que mantiene la entrega de cortisol a los diferentes tejidos. Las concentracio-

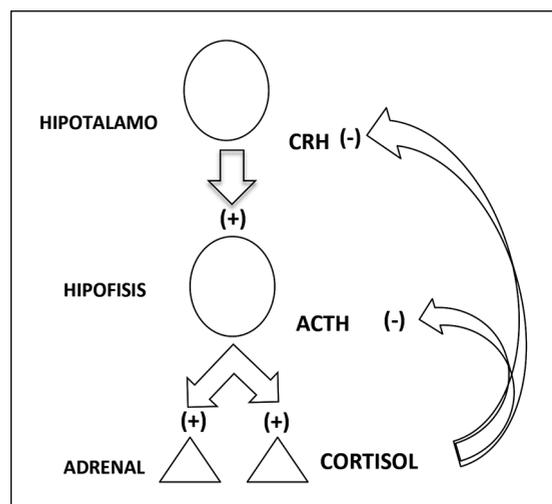


Figura 1. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal y regulación por cortisol. (+) indica estimulación y (-) indica inhibición.

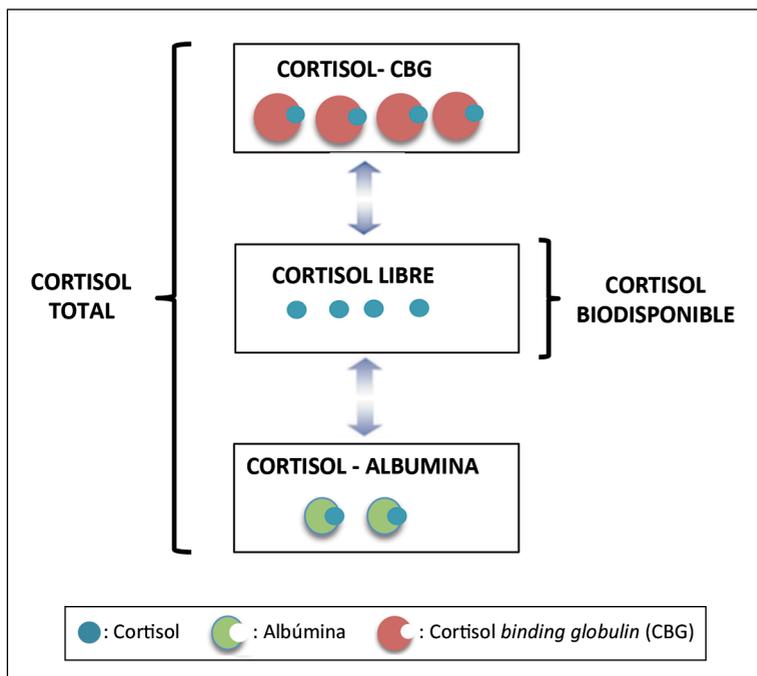


Figura 2. Cortisol plasmático total y libre.

nes normales de cortisol plasmático promedio se estima en 375 nmol/L, valor que depende del horario en el que se cuantifique. Altas concentraciones de cortisol plasmático implican que los sitios de unión de la GBP están saturados, aumentando así la unión a albúmina y la fracción libre, donde ocurre el aumento más importante. El incremento de la fracción libre ha sido discutido especialmente en pacientes críticos con hipoproteinemia^{21,22}.

Cuando el binomio cortisol-transportador alcanza el sitio blanco, la enzima elastasa, originada en los neutrófilos, tiene la función de clivar el *loop* central de GBP, liberando al cortisol transportado²³, el que por su naturaleza lipídica, cruza libremente la membrana plasmática y accede al receptor presente en el citoplasma.

Receptor de glucocorticoides (GR)

La mayoría de las acciones de cortisol requieren de la unión de este a su receptor, denominado receptor de glucocorticoides (GR, *glucocorticoid receptor*) y de la translocación del binomio cortisol/GR al núcleo, donde cumple un importante rol en la regulación de genes (Figura 3). GR es

una proteína que funciona como factor de transcripción activado por ligando. GR es un receptor nuclear que permanece en el citoplasma formando un complejo con varias proteínas chaperonas. Al unirse al ligando, ocurre un cambio conformacional en GR que le permite liberarse del complejo proteico, exponer el sitio de localización nuclear y traslocar al núcleo donde se une en forma de dímeros GR α /GR α , a sitios específicos del ADN, denominados elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE, *glucocorticoid response elements*) y controlar la transcripción de genes (Figura 3). En general, los efectos metabólicos de cortisol son mediados por mecanismos de transactivación y los efectos antiinflamatorios son principalmente mediados por mecanismos de transrepresión.

GR está codificado en un único gen. Se han descrito varias isoformas de la proteína originadas algunas en el procesamiento (*splicing*) alternativo del ARN mensajero (mRNA) y otras en el inicio alternativo de traducción²⁴⁻²⁶. La isoforma más abundante es GR α , originada en el *splicing* alternativo y corresponde a 90% de los GR; está presente en todos los tejidos y es considerada el mediador primario de las acciones de los GC. El *splicing* alternativo también genera GR β ^{27,28}, isoforma que

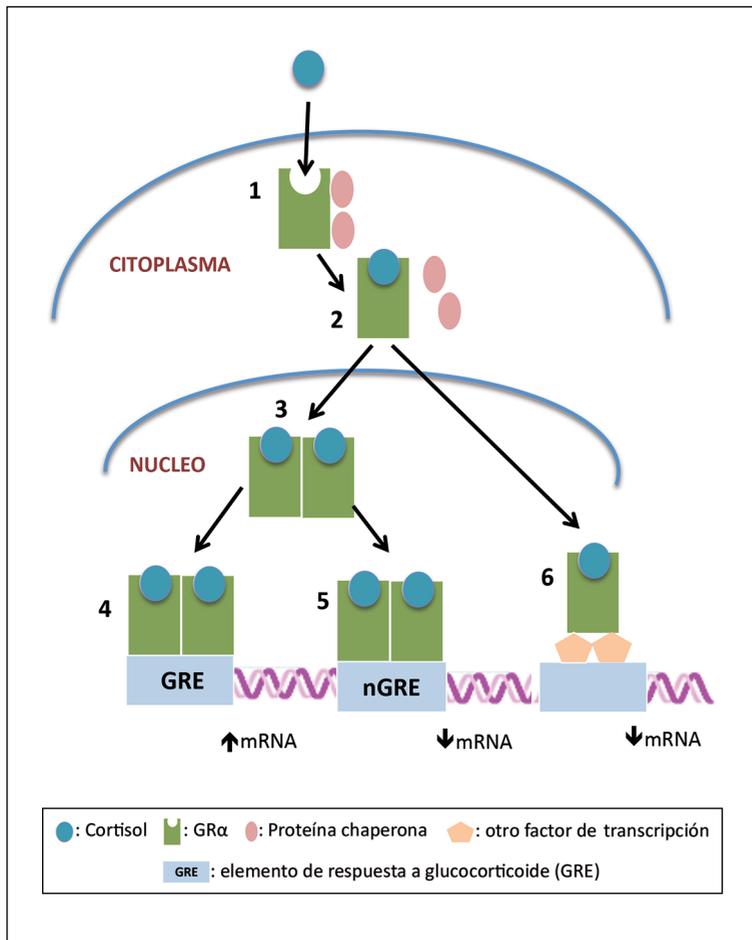


Figura 3. Mecanismos de acción de cortisol y GR α . **1)** GR unido al complejo multiproteico; **2)** GR es ocupado por el cortisol y libera proteínas chaperonas; **3)** dimerización de GR; **4)** trans-activación; **5)** cis-represión; **6)** trans-represión.

no a cortisol y que, al formar dímeros con GR α , actúa como dominante negativo de éste. GR β ha sido identificado en diversas células y tejidos, siempre en cuantía significativamente menor que GR α ²⁹. Se sabe que en situaciones inflamatorias, algunas citoquinas favorecen el incremento de GR β , favoreciendo un menor efecto de los GC y por ello es señalado como un mecanismo de resistencia³⁰.

Cuando existe un exceso de cortisol, como en el síndrome de Cushing, algunas manifestaciones clínicas, hipertensión arterial e hipokalemia, se parecen a las observadas en cuadros de exceso de MC. Las funciones de MC son mediados por el receptor de MC (MR, *mineralocorticoid receptor*), proteína intracelular que tiene un origen similar a GR. MR tiene alta afinidad por aldosterona y también por cortisol³¹⁻³³. Como cortisol tiene una

concentración plasmática 100 a 1.000 veces más alta que aldosterona, MR también puede ser activado por cortisol y la célula ha resuelto esto con el producto del gen *11 β hsd2*: la enzima 11beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 (11 β HSD2). Esta enzima cataliza en forma unidireccional la conversión de cortisol a cortisona, forma que es inactiva. 11 β HSD2 es expresada predominantemente en tejidos donde actúan los MC (Figura 4)³⁴.

Insuficiencia suprarrenal relativa.

Se entiende por resistencia a cortisol a la incapacidad parcial o aparentemente generalizada de los glucocorticoides para mediar sus efectos. Esta condición está asociada con un incremento compensatorio de CRH y ACTH. La patología incluye,

entre otros, mutaciones puntuales y/o microdelecciones del gen de GR y también alteración de la biodisponibilidad intracelular del GR³⁵. Por otra parte, se sabe que la variabilidad individual de los efectos biológicos de cortisol puede ser explicada por variantes polimórficas del GR, las que modifican el fenotipo de sensibilidad a los GC³⁶, estas no corresponden a mutaciones y existe numerosa discusión en relación a su relevancia clínica real.

Este concepto es diferente a insuficiencia suprarrenal relativa (ISR), el cual consiste en la inadecuada producción de cortisol respecto de las necesidades fisiológicas. Este término se ha utilizado con frecuencia, los últimos años, en Medicina Intensiva para referirse a la necesidad de suplementación de cortisol y los beneficios que significan³⁷. En los pacientes críticos, la falta de reconocimiento de esta entidad, o su reconocimiento tardío, se asocia a mayor incidencia de shock resistente a terapia con fluidos y vasopresores y mayor mortalidad³⁸⁻⁴¹. El diagnóstico de este trastorno suprarrenal funcional no es posible a partir de parámetros clínicos⁴² y actualmente se basa en la determinación sérica del cortisol total. La prueba de estimulación con ACTH es una valoración dinámica empleada en forma frecuente para este

fin⁴², y consiste en la determinación de cortisol total antes y 60 min después de la administración intravenosa de 250 µg de cosyntropin. Aunque los criterios diagnósticos no se han consensuado, una respuesta baja a ACTH se considera diagnóstico de ISR³⁶. También se propone el diagnóstico de ISR en ausencia de prueba de cosyntropin cuando los valores basales de cortisol total son tan bajos como < 9 o 15 µg/dL, según diferentes autores^{43,44}. Fundado en ello, el grupo francés, liderado por Annane, presentó en el 2002 un estudio en pacientes sépticos, en quienes se realizó la prueba dinámica con cosyntropin y se administró tratamiento con hidrocortisona y fludricortisona por 7 días, observando una significativa reducción del riesgo de muerte, sin incremento de reacciones adversas en el grupo son ISR⁴⁵. En el 2008, el CORTICUS *Study group* comunicó los resultados de su estudio multicéntrico, aleatorio, doble ciego y con control con placebo, demostrando que hidrocortisona no mejoró la supervivencia ni la reversión del shock en el total de pacientes incluidos, así como tampoco en los pacientes que no respondieron a cosyntropin⁴⁶. Por tanto, si la terapia de sustitución con GC es o no beneficiosa en pacientes sépticos graves es un tema no resuelto. Es necesario hacer notar, además, que existe un grupo de pacientes críticos que en situaciones de estrés agudo elevan en forma importante los niveles séricos de cortisol y, pese a ello, presentan mayor mortalidad³⁷. Es posible que estos pacientes presenten un estado de resistencia aguda a la acción de cortisol, condición que no ha sido estudiada y pudiera colaborar a la alta mortalidad observada.

Factores causales de respuesta suprarrenal alterada en estrés agudo

Los pacientes críticamente enfermos están enfrentados a situaciones que modifican la respuesta de la glándula suprarrenal, la interpretación de los resultados de laboratorio que buscan valorar su función en forma objetiva y la respuesta celular a esta hormona. Se sabe que estresores psíquicos y físicos convergen en la activación del eje HHA, lo cual incrementa la síntesis y secreción de cortisol⁴⁷. En estos pacientes existen, además, condiciones asociadas a su situación crítica que pueden influir negativamente en las acciones de cortisol observadas en clínica.

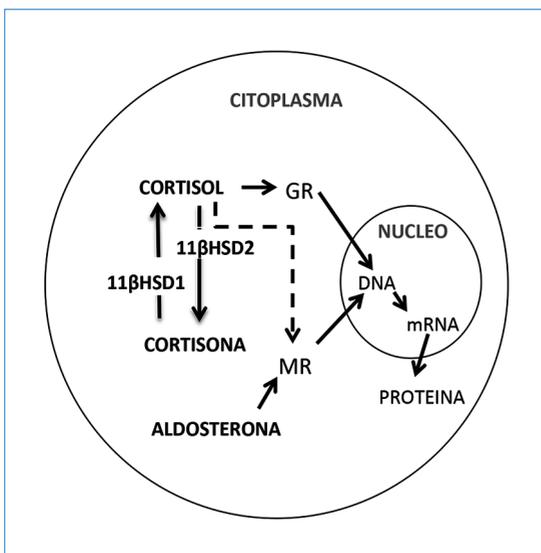


Figura 4. Regulación intracelular de la biodisponibilidad Intracelular de cortisol. GR es receptor de glucocorticoides; MR es receptor de mineralocorticoide; 11βHSD1 es 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1; 11βHSD2 es 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2.

Síntesis y secreción de cortisol

Pese a la existencia de función normal del eje HHA, la capacidad de síntesis de cortisol en estrés agudo puede estar disminuida por factores tales como el uso previo de corticoides sistémicos o inhalados⁴⁸. También la exposición a algunos fármacos genera un efecto deletéreo en la síntesis de cortisol y entre ellos es necesario considerar el uso de ketoconazol⁴⁹ y etomidato⁵⁰⁻⁵⁴, siendo especialmente este último un fármacos de uso frecuente en el ambiente de paciente crítico.

Cuantificación del cortisol circulante

En general, en clínica se utilizan los niveles plasmáticos de cortisol total. Se ha discutido ampliamente si deberíamos referirnos a la fracción libre de la hormona, dado que en situaciones de estrés agudo disminuye la síntesis de las proteínas transportadoras de cortisol, generando aumento de la fracción libre de la hormona (Figura 2)^{21,55-59}. La cuantificación de cortisol libre constituye un procedimiento técnico laborioso y, con la finalidad de facilitar el trabajo clínico, autores han diseñado algunas estrategias alternativas para conocer su valor, ya sea por medio de la cuantificación del cortisol salival⁶⁰ o calculando el índice de cortisol libre (FCI, *free cortisol index*), aproximación que requiere la cuantificación de GBP o de albúmina⁶¹⁻⁶³. Al momento, esta discusión no ha sido resuelta.

Biodisponibilidad celular de cortisol

Las acciones de cortisol dependen de la biodisponibilidad de éste en la célula. Un mecanismo que modifica su biodisponibilidad involucra a las enzimas reductasas y a las enzimas 11 β HSD1 y 2 (Figura 4), las cuales regeneran y degradan cortisol, respectivamente⁶⁴. Resultados de nuestro grupo de trabajo muestran que en un modelo celular, LPS reduce la expresión del mRNA de 11 β HSD1 (dato no publicado) e induce la expresión del mRNA de 11 β HSD2⁶⁵, tal como ha sido reportado para muestras de pulmón obtenidas de pacientes fallecidos por síndrome de *distress* respiratorio del adulto (ARDS)⁶⁶. Otros autores demostraron reducción del mRNA de 11 β HSD1 en tejido hepático y adiposo más disminución de la funcionalidad de 11 β HSD2⁶⁷. La discrepancia con nuestros resultados podría ser explicado porque para valorar la expresión de 11 β HSD1, estos autores estudiaron tejidos obtenido de pacientes

fallecidos, mientras que la actividad de 11 β HSD2 fue medido en forma indirecta, a través de cuantificación de la razón cortisona/cortisol urinario; esta última valoración pudo estar influida por la cinética de la enzima y la limitación de su actividad en presencia de alto niveles de cortisol. Además, estos mismo autores⁶⁷ demostraron disminución de la cantidad de mRNA de α -reductasas y del mRNA, proteína y funcionalidad de β -reductasas hepáticas, como manifestación de otro mecanismo más involucrado en el incremento de cortisol plasmático en ausencia de estimulación central. Los resultados obtenidos del análisis de muestras obtenidas de pacientes fallecidos debe ser interpretado con precaución, porque tales hallazgos pudieran constituir una causa favorecedora del desenlace fatal.

Expresión del GR activo y miRNA

La disminución de la expresión de GR α , o la interferencia en su acción, constituyen mecanismos de resistencia a la acción de cortisol. Es decir, modificaciones de la relación GR α /GR β por disminución del primero o incremento de GR β , constituyen un mecanismo de resistencia a cortisol. Una forma de disminuir la expresión de GR α es mediada por microARN (miRNA). Los miRNA son pequeñas moléculas de ARN no codificante, que al aparearse en forma complementaria con secuencias del mRNA generan silenciamiento o represión de la información contenida en este último⁶⁸. Ensayos *in vitro* utilizando cultivos primarios de linfocitos T de voluntarios sanos y de pacientes con sepsis, han demostrado presencia de un miRNA cuya expresión aumenta cuando las células son estimuladas⁶⁹. La sobreexpresión de este miRNA se asoció con disminución del mRNA del GR α , sin modificar la expresión de GR β ⁶⁹.

GR β : isoforma dominante negativa

Como GR β tiene efecto dominante negativo sobre GR α , incrementos de su expresión generan resistencia a cortisol^{27,28}. Nuestro grupo de trabajo demostró que pacientes críticos con shock séptico presentan incremento transitorio del contenido de GR β en células inmunes, esto es mediado por un factor soluble presente en el suero, el que induce resistencia a dexametasona en células en cultivo⁷⁰. Sabemos de la literatura que este incremento de GR β es mediado por TNF α e IL-1²⁹. En nuestro

grupo de trabajo, hemos demostrado también que LPS modifica la expresión de los GR (artículo en preparación) y hemos reportado que pacientes pediátricos con infección por virus respiratorio sincicial (VRS) presentan, en la fase aguda, incremento de la expresión de GR β ⁷¹. Proponemos que este efecto en la expresión de GR β se relaciona con la activación de TLR4, receptor celular implicado en el reconocimiento de LPS y VRS⁷².

Propuesta

Luego de esta revisión, concordamos con que el término insuficiencia suprarrenal relativa no es adecuado en pacientes críticos para referirse a la suficiencia de función de cortisol. En 2009, P. Marik propuso el término CIRCI para referirse a la actividad inadecuada de los CE, alteración que incluye tanto niveles circulantes bajos de cortisol, así como resistencia celular⁷³. La impresión personal y de otros⁷⁴ es que la suplementación de cortisol debe ser individualizada y ajustada a metas biológicas, dado que la sensibilidad a cortisol varía de persona a persona. Entonces, propongo que la prescripción de CE sea ajustada a cada paciente de acuerdo a una valoración como la siguiente:

- Identificar la suficiente disponibilidad sérica de cortisol cuantificando los valores de su forma libre, ya sea por método directo o por FCI. Este paso inicial es fundamental al momento de decidir la suplementación cuando un paciente presenta niveles bajos;
- Realizar una prueba de sensibilidad *ex vivo*. Existen antecedentes en otras áreas de la medicina que avalan este tipo de ensayos como herramienta útil para decidir esta terapia en forma individualizada^{75,76}. Los genes *target* a valorar en esta prueba podrían incluir a relacionados con respuesta inflamatoria y hemodinámica, ambas metas clínicas relevantes;
- Cuantificar la expresión de GR para conocer la razón GR α /GR β . Propongo realizar esta valoración en células inmunes mononucleares circulantes –no neutrófilos, porque estas presentan en forma nativa alta cantidad de GR β ⁷⁷– dado que acceder a otro tipo de tejido implicaría la realización de una biopsia por método intervencional o quirúrgico, acción que podría agregar morbilidad a estos pacientes.

Agradecimientos: Agradezco a la Sra. Rosario Flores, asistente técnico del laboratorio de Inmunomodulación Neuroendocrina, por su invaluable labor en el desarrollo de los estudios experimentales realizados en el laboratorio y comentados en este artículo.

Referencias

1. Scott WJ. The influence of the adrenal glands on resistance: I. The susceptibility of adrenalectomized rats to morphine. *J Exp Med* 1923; 38 (5): 543-60.
2. Scott WJ. The influence of the adrenal glands on resistance: II. The toxic effect of killed bacteria in adrenalectomized rats. *J Exp Med* 1924; 39 (3): 457-71.
3. Hartman FA, Scott WJ. Protection of adrenalectomized animals against bacterial intoxication by an extract of the adrenal cortex. *J Exp Med* 1932; 55 (1): 63-9.
4. Seyle H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature* 1936; 138: 32.
5. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Keh D, Kupfer Y. Corticosteroids for severe sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2004; 329: 480.
6. Meade M. Review: low-dose but not high-dose corticosteroids reduced all-cause mortality in severe sepsis and septic shock. *ACP J Club* 2005; 142: 30.
7. Batzofin BM, Weiss YG, Ledot SF. Do corticosteroids improve outcome for any critical illness? *Curr Opin Anaesthesiol* 2013; 26: 164-70.
8. Cannon WB. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. *Am J Physiol* 1914; 33: 356-72.
9. Selye H. Pharmacological classification of steroid hormones. *Nature* 1941; 148: 84.
10. Selye H. An attempt at a natural classification of the steroids. *Nature* 1943; 151: 662.
11. Selye H. On the hormonal activity of a steroid compound. *Science* 1941; 94: 94.
12. Seyle H. *The physiology and pathology of exposure to stress, a treatise based on the concepts of the general-adaptation syndrome and the diseases of adaptation*. Montreal: Acta, Inc, Medical Publishers. 1950.
13. Guyton and Hall Chapter 77: Adrenocortical Hormones *Textbook of Medical Physiology*, by John Edward Hall, Arthur C. Guyton. 12th Edition. Saunders/Elsevier, 2011.
14. Goodman & Gilman's Chapter 42: ACTH, Adrenal Steroids and Pharmacology of the Adrenal Cortex *The pharmacological basis of Therapeutics* by Laurence L Bruton, Bruce A Chabner, Bjorn C Knollman. 12th edition. The McGraw-Hill Companies, Inc 2011.

15. Beck JC, McGarry EE. Physiological importance of cortisol. *Br Med Bull* 1962; 18 (2): 134-40.
16. Bryth BC, Billinsley GD, Cox DW. Physical and genetic mapping of the serpin gene cluster at 14q32.1: allelic association and a unique haplotype associated with alpha 1-antitrypsin deficiency. *Am J Hum Genet* 1994; 55 (1): 126-33.
17. Lin HY, Muller YA, Hammond GL. Molecular and structural basis of steroid hormone binding and release from corticosteroid-binding globulin. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316 (1): 3-12.
18. Harper ME, Dugaiczak A. Linkage of the evolutionarily-related serum albumin and alpha-fetoprotein genes within q11-22 of human chromosome 4. *Am J Human Genet* 1983; 35: 565-72.
19. Keenan DM, Roelfsema FR, Veldhuis JD. Endogenous ACTH concentration-dependent drive of cortisol secretion in the human. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: 652-61.
20. Lewis JG, Bagley CJ, Elder PA, Bachman AW, Torpy DJ. Plasma free cortisol fractional reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. *Clin Chim Acta* 2005; 359: 189-94.
21. Hamrahian AH, Oseni TA, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350: 1629-38.
22. Loriaux L. Glucocorticoid therapy in the intensive care unit. *NEJM* 2004; 350: 1601-2.
23. Lewis JG, Elder PA. The reactive centre loop of corticosteroid-binding globulin (CBG) is a protease target for cortisol release. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 384 (1-2): 96-101.
24. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli G, Oro A, Lebo R, et al. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature* 1985; 318: 635-41.
25. Encio IJ, Detera-Wadleigh SD. The genomic structure of the human glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1991; 266: 7182-8.
26. Lu NZ, Cidlowski JA. Translational regulatory mechanisms generate N-terminal glucocorticoid receptor isoforms with unique transcriptional target genes. *Mol Cell* 2005; 18: 331-42.
27. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest* 1995; 95: 2435-41.
28. Oakley RH, Jewell CM, Yudt MR, Bofetiado DM, Cidlowski JA. The dominant negative activity of the human glucocorticoid receptor beta isoform. Specificity and mechanism of action. *J Biol Chem* 1999; 274: 27857-66.
29. Webster JC, Oakley RH, Jewell CM, Cidlowski JA. Pro-inflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative beta isoform: a mechanism for the generation of glucocorticoid resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6865-70.
30. Lewis-Tuffin LJ, Cidlowski JA. The physiology human glucocorticoid receptor beta (hGRbeta) and glucocorticoid resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1069: 1-9.
31. Arriza JL, Weinberger C, Cerelli G, Glaser TM, Handelin BL, Housman DE, Evans RM. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: Structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. *Science* 1987; 237: 268-75.
32. Fardella CE, Miller WL. Molecular biology of mineralocorticoid metabolism. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 443-70.
33. White PC. Inherited forms of mineralocorticoid hypertension. *Hypertension* 1996; 28: 927-36.
34. Stewart PM, Whorwood CB, Mason JI. Type 2 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in foetal and adult life. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 55: 465-71.
35. Chrousos GP, Detera-Wadleigh SD, Karl M. Syndrome of glucocorticoid resistance. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1113-24.
36. van Rossum EF, van den Akker EL. Glucocorticoid resistance. *Endocr Dev* 2011; 20: 127-36.
37. Annane D, Sebille V, Troche G, Raphael JC, Gajdos P, Bellissant E. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000; 283:1038-45.
38. Sibbald WJ, Short A, Cohen MP, Wilson RF. Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections. Unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. *Ann Surg* 1977; 186: 29-33.
39. Rothwell PM, Udawadia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991; 337: 582-3.
40. Soni A, Pepper GM, Wyrwinski PM, Ramirez NE, Simon R, Pina T, et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. *Am J Med* 1995; 98: 266-71.
41. Briegel J, Schelling G, Haller M, Mraz W, Forst H, Peter K. A comparison of the adrenocortical response during septic shock and after complete recovery. *Intensive Care Med* 1996; 22: 894-9.
42. Oppert M, Schindler R, Husung C, Offermann K, Gräf KJ, Boenisch O, et al. Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Crit Care Med* 2005; 33: 2457-64.

43. Cooper MS, Stewart PM. Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients. *N Engl J Med* 2003; 348: 727-34.
44. Minneci PC, Deans KJ, Banks SM, Eichacker PQ, Natanson C. Metaanalysis: the effects of steroids on survival and shock during sepsis depends on the dose. *Ann Intern Med* 2004; 141: 47-56.
45. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, et al. Effects of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 388: 862-71.
46. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, et al. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *NEJM* 2008; 358: 111-24.
47. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine response to stress. *Dialogues Clin Neurosci* 2006; 8: 383-95.
48. Ahmet A, Kim H, Spier S. Adrenal suppression: A practical guide to the screening and management of this under-recognized complication of inhaled corticosteroid therapy. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011; 7: 13.
49. Tucker WS, Snell BB, Island DP, Gregg CR. Reversible adrenal insufficiency induced by ketoconazole. *JAMA* 1985; 253: 2413-4.
50. Hildreth AN, Mejia VA, Maxwell RA, Smith PW, Dart BW, Barker DE. Adrenal suppression following single dose of etomidate for rapid sequence induction: a prospective randomized study. *J Trauma* 2008; 65: 573-9.
51. Chan CM, Mitchell AL, Shorr AF. Etomidate is associated with mortality and adrenal insufficiency in sepsis: a meta-analysis. *Crit Care Med* 2012; 40: 2945-53.
52. Bruder EA, Ball IM, Ridi S, Pickett W, Hohl C. Single induction dose of etomidate versus other induction agents for endotracheal intubation in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 1: CD010225.
53. Gu H, Zhang M, Cai M, Liu J. Combined use of etomidate and dexmedetomidine produce an additive effect in inhibiting the secretion of human adrenocortical hormones. *Med Sci Monit* 2015; 21: 3528-35.
54. Lipiner-Friedman D, Sprung CL, Laterre PF, Weiss Y, Goodman SV, Vogeser M, et al. Adrenal function in sepsis: the retrospective Corticus cohort study. *Crit Care Med* 2007; 35: 1012-8.
55. Venkatesh B, Mortimer RH, Couchman B, Hall J. Evaluation of random plasma cortisol and the low dose corticotropin test as indicators of adrenal secretory capacity in critically ill patients: a prospective study. *Anaesth Intensive Care* 2005; 33: 201-9.
56. Cohen J, Ward G, Prins J, Jones M, Venkatesh B. Variability of cortisol assays can confound the diagnosis of adrenal insufficiency in the critically ill population. *Intensive Care Med* 2006; 32: 1901-5.
57. Ho JT, Al-Musalhi H, Chapman MJ, Quach T, Thomas PD, Bagley CJ, et al. Septic shock and sepsis: a comparison of total and free plasma cortisol levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 105-14.
58. Cohen J, Smith ML, Deans RV, Pretorius CJ, Ungerer J, Tan T, Jones M, et al. Cortisol, and tissue cortisol activity in patients with septic shock: an observational study. *Shock* 2011; 37: 28-33.
59. Venkatesh B, Imeson L, Kruger P, Cohen J, Jones M, Bellomo R. Elevated plasma-free cortisol concentrations and ratios are associated with increased mortality even in the presence of statin therapy in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2015; 43: 630-5.
60. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlayeh H, Hejal R. Measurement of salivary cortisol concentration in the assessment of adrenal function in critically ill subjects: a surrogate marker of the circulating free cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2965-71.
61. le Roux CW, Chapman GA, Kong WM, Dhillon WS, Jones J, Alagband-Zadeh J. Free cortisol index is better than serum total cortisol in determining hypothalamic-pituitary-adrenal status in patients undergoing surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2045-48.
62. Caplan RH, Asp AA, Wiskus GG, Lambert PJ, Cogbill TH. An albumin-derived free cortisol index may be a practical surrogate for free plasma cortisol measurements. *The Endocrinologist* 2009; 19: 17-8.
63. Dorin RI, Pai HK, Ho JT, Lewis JG, Torpy DJ, Urban FK, et al. Validation of a simple method of estimating plasma free cortisol: role of cortisol binding to albumin. *Clinical Biochem* 2009; 42: 64-71.
64. Lakshmi V, Nath N, Muneyyirci-Delale O. Characterization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase of human placenta: evidence for the existence of two species of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 45: 391-7.
65. Guerrero J, Contreras M, Goecke IA. Lipopolisacárido bacteriano aumenta el contenido celular de la enzima HSD11B2 en células blanco de glucocorticoides. *Rev Chil Med Intensiva* 2010; 25 (2): 81.
66. Suzuki S, Tsubochi H, Ishibashi H, Suzuki T, Kondo T, Sasano H. Increased expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in the lung of patients with acute respiratory distress syndrome. *Pathol Int* 2003; 53: 751-6.
67. Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Declercq PE, et al. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med* 2013; 368: 1477-88.
68. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-97.

69. Ledderose C, Mohnle P, Limbeck E, Schutz S, Weis F, Rink J, et al. Corticosteroid resistance in sepsis is influenced by microRNA-124-induced downregulation of glucocorticoid receptor- α . *Crit Care Med* 2012; 40: 2745-53.
70. Guerrero J, Gatica HA, Rodríguez M, Estay R, Goecke IA. Septic serum induces glucocorticoids resistance and modifies the expression of glucocorticoid isoforms receptors: a prospective cohort study and in vitro experimental assay. *Crit Care* 2013; 17 (3): R107.
71. Diaz PV, Pinto RA, Mamani, Uasapud PA, Bono MR, Gaggero AA, Guerrero J, Goecke A. Increased expression of the glucocorticoid receptor beta in infants with RSV bronchiolitis. *Pediatrics* 2012; 130 (4): e804-11.
72. Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L, Haynes LM, Jones LP, Tripp RA, et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000; 1: 398-401.
73. Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Chest* 2009; 135: 181-93.
74. Schelling G, Hauer D, Pfof M. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *NEJM* 2013; 369: 479-81.
75. Kirkham BW, Corkoll MM, Davison SC, Panayi GS. Response to glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: in vitro cell mediated immune assay predicts in vivo responses. *J Rheumatol* 1991; 18: 821-5.
76. Quax RA, Koper JW, de Jong PH, van Heerebeek R, Weel AE, Huisman AM, et al. In vitro glucocorticoids sensitivity is associated with clinical glucocorticoid therapy outcome in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R195.
77. Strickland I, Kisich K, Hauk PJ, Vottero A, Chrousos GP, Klemm DJ, et al. High constitutive glucocorticoid receptor beta in human neutrophils enables them to reduce their spontaneous rate of cell death in response to corticoids. *J Exp Med* 2001; 193 (5): 585-93.