

Sirotik hastalarda adrenal yetmezlik prevalansı ve tanıda tükürük kortizolünün yeri

The prevalence of adrenal insufficiency in cirrhosis and the role of salivary cortisol in the diagnosis

Filiz ARAZ, Birol ÖZER, Barış SOYDAŞ, Ender SERİN

Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Gastroenteroloji Bölümü, Adana

Giriş ve Amaç: Stabil sirotik hastalarda, total kortizol ve tükürük kortizolüne göre adrenal yetmezlik prevalansının belirlenmesi ve tanıda bu kriterlerin uyumunun araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 110 hasta ve 30 sağlıklı kontrol alındı. Hasta ve kontrollerin bazal tam kan sayımı, albümin, bilirubin, protrombin zamanı, total kortizol, tükürük kortizolü, kortizol bağlayıcı globülin değerleri ölçüldü. Serbest kortizoller Coolens formülü ile hesaplandı. Hastaların 250 mg synacten uygulanması sonrası, 1. saatte total ve tükürük kortizolü ölçülüp, serbest kortizol düzeyleri hesaplandı. **Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması 62.1±11.4 yıl olup, 54'ü (%49.1) erkek idi. Ortalama Child skoru 7.2±2.3 olup, 56'sı (%50.9) Child A, 32'si (%29.1) Child B ve 22'si (%20) Child C idi. Total kortizole göre 23 (%20.9), serbest kortizole göre ise 17 hastada (%15.5) adrenal yetmezlik saptandı. Yirmidört hasta (%21.8) tükürük kortizolü için tanı kriterlerinden en az birini sağladı. Bazal tükürük kortizolü <1.81 ng/ml olup, ACTH sonrası yeterli tükürük kortizol artışı sağlayamayanlar ile tükürük kortizolü 1.saat <4.96 ng/ml ve delta <3 ng/ml olanlar gerçek adrenal yetmezlik için daha yüksek olasılıklı olup, hastaların %12.7'sini oluşturmuştur. Tükürük ve total kortizol kriterlerinin uyumu zayıf saptandı (kappa: 0.161). Bazal total kortizol, bazal tükürük kortizolü (r:0.502, p<0.0001) ve serbest kortizol ile (r:0.579, p<0.0001) orta derecede pozitif korelasyon gösterdi. Bazal tükürük kortizolü ve serbest kortizol arasında ise güçlü korelasyonu saptandı (r: 0.706, p<0.0001). **Sonuç:** Siroz hastalarında, total kortizole göre adrenal yetmezlik, serbest ve tükürük kortizolüne kıyasla daha yüksek saptanmıştır. Tükürük kortizolü serbest kortizol ile güçlü korelasyon göstermesi nedeniyle, sirotik hastalarda adrenal yetmezlik tanısı için uygun bir seçenek olabilir.

Anahtar Kelimeler: Siroz, adrenal yetmezlik, tükürük kortizolü

GİRİŞ

Kortizol, stres yanıtının önemli bir bileşeni olup, immün sistemin normal fonksiyonu, vasküler tonüs, kardiyak output ve metabolik dengenin devamı ile birçok sellüler olayda önemli role sahiptir (1, 2). Adrenal yetmezlik dekompanse sirozda %66, akut karaciğer yetmezliğinde %33, transplantasyon merkezinde izlenen hastalarda %72, sepsis ile izlenen kronik karaciğer hastalarında

Background and Aims: The objective of this study was to assess the prevalence of adrenal insufficiency according to total and salivary cortisol and to evaluate the discrepancy between these parameters for diagnosis among stable cirrhotic patients. **Materials and Methods:** A total of 110 consecutive patients with cirrhosis and 30 healthy controls were enrolled into the study. Baseline complete blood count, albumin, bilirubin, prothrombin time, and total and salivary cortisol levels were measured in both patients and controls and free cortisol level was calculated according to Coolens formula. One hour after the administration of 250 µg synacthen, total and salivary cortisol levels were measured and free cortisol was calculated accordingly. **Results:** The mean age of the patients was 62.7±11.4 years, and there were 54 males (49.1%). Adrenal insufficiency was present in 23 (20.9%) and 17 (15.5%) patients according to total and free cortisol, respectively. At least one of the criteria for adrenal insufficiency for salivary cortisol was present in 24 (21.8%) patients. Patients with baseline salivary cortisol <1.81 ng/ml and without satisfactory cortisol increase following ACTH test, and all patients with salivary cortisol level measured as <4.96 at 1 hour with delta of <3 ng/ml, regardless of baseline value, were accepted as having adrenal insufficiency with the highest probability; these constituted 12.7% of all patients. Baseline total cortisol showed a low correlation with salivary and free cortisol (r: 0.502 and r: 0.579, respectively). In contrast, the correlation between salivary and free cortisol was relatively higher (r: 0.706, p<0.0001). **Conclusions:** Adrenal insufficiency was diagnosed more commonly according to total cortisol when compared to salivary and free cortisol. Regarding the higher correlation of free cortisol with salivary cortisol relative to total cortisol, salivary cortisol could be a suitable alternative for the diagnosis of adrenal insufficiency in patients with cirrhosis.

Key Words: Cirrhosis, adrenal insufficiency, salivary cortisol

%51, septik şoku olan sirozlu hastalarda %68-77, infeksiyon veya hemodinamik bozukluğu olmayan stabil siroz hastalarında ise %38 oranında saptanmıştır (1, 3-7).

Klinik pratikte, adrenal yetmezlik bazal veya adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile stimülasyon sonrası ölçülen total serum kortizol düzeyleri ile değerlendirilmektedir. Dolaşımda kortizolün >%90'ının kortizol bağlayıcı globü-

İletişim: Birol ÖZER

Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi
Dadaloğlu Mah. 39 Sk. No: 6 Yüreğir 01250 / Adana, Türkiye
Tel: +90 322 327 27 27 • Fax: +90 322 327 12 74 • E-mail: birolazer@yahoo.com

Geliş Tarihi: 27.08.2012 • **Kabul Tarihi:** 03.09.2012

lin (KBG) veya albumine bağlı olması ve bu proteinlerin düzeyinin karaciğer sirozunda düşmesi, biyolojik olarak aktif fraksiyon olan serbest kortizol ölçümünün sirotik hastalarda adrenal yetmezlik tanımında daha güvenilir bir parametre olacağını düşündürmektedir (8, 9).

Hipoproteinemisi olan kritik düzeyde ağır hastaların, serum total kortizol düzeylerine dayanarak %40'ı adrenal yetmezlik tanısı alır iken, bu hastaların bazal ve ACTH testi sonrası serbest kortizol düzeylerinin normal olduğu gösterilmiştir (10).

Serbest serum kortizol ölçümü teknik olarak zor ve pahalı olduğundan rutin olarak kullanılmamaktadır (11). Serbest kortizol, total serum kortizolü ve KBG düzeyi kullanılarak hesaplanabileceği gibi, serbest kortizolü yansıttığı ve serum protein düzeylerinden etkilenmediği gösterilmiş olan tükürük kortizolünün ölçümü alternatif bir seçenek olabilir (12-15). Hemodinamik olarak stabil sirotik hastalarda serum total kortizol ölçümlerine dayanarak %33'ünde adrenal yetmezlik tanısı konmuş iken, tükürük kortizolü esas alındığında bu oranın %9.1'e düştüğü bildirilmiştir (16).

Bu çalışmada, sirotik hastalarda total serum kortizolü, serbest serum kortizolü ve tükürük kortizolü ile adrenal yetmezlik prevalansının hesaplanması ve tanıda bu parametrelerin uyumluluğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Dizaynı

Çalışmaya 110 stabil siroz hastası ve 30 sağlıklı kontrol alındı. Karaciğer biyopsisi ve/veya klinik ve laboratuvar bulguları ile siroz tanısı almış olan hastalar, etiyoloji dik-kate alınmaksızın çalışmaya dahil edildi.

Dışlanma kriterleri:

1. Enfeksiyon veya sepsis bulguları olan hastalar,
2. Sepsis veya hemorajiye bağlı hipotansif şoku olan hastalar,
3. Hemodinamik olarak instabil veya vazopressör ihtiyacı olan hastalar,
4. Son bir yıl içinde steroid kullanmış veya halen kullanmakta olan hastalar,
5. 18 yaş altındaki hastalar,
6. Gebeler,
7. Bilinen adrenal yetmezliği olan hastalar,
8. Sjögren sendromu olan hastalar,

9. Etomidat, ketokonazol gibi kortizol sentezini etkileyen ilaç kullanan hastalar,

10. Kortizol bağlayıcı globulin düzeyini değiştirdiği bilinen ilaç kullanan hastalar,

11. Tükürük salgısını etkileyen ilaç kullanan hastalar,

12. Yatışı sırasında albumin, taze donmuş plazma veya glipressin kullanan hastalar, çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya alınan hastalardan, yeterli bilgilendirme sonrasında yazılı onam belgesi alındı. Çalışma için üniversitemiz Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Çalışma Protokolünün Uygulanması

Protokolün uygulandığı gün fizik muayenesi yapılan hastaya damar yolu açılıp, 15 dakika sonra kan ve tükürük örneği alındı. Hastanın ağzında herhangi bir nedenle kan olmamasına dikkat edildi. Kortikotropinin 250 µg intramusküler uygulanmasından 60 dakika sonra, tekrar kan ve tükürük örneği alındı.

Bazal ve stimülasyon sonrası tükürük örnekleme için standart olarak ucuna pamuk sarılmış steril çubuklar kullanıldı. Hastalar, örnekleme öncesindeki bir saat içinde dişlerini fırçalamamak, sigara içmemek ve su dışında herhangi bir şey yiyip içmemek konusunda bilgilendirildi. Hastalardan steril pamuklu çubukları 3 dakika ağızlarında bekleterek, tamamen tükürük ile ıslatmaları istendi. Daha sonra tükürük emdirilen pamuklu kısım standart bir uzunlukta kesilerek, plastik tüplere alındı ve -20 °C'de çalışma zamanına kadar saklandı.

Alınan bazal kan örneğinde tam kan sayımı, protrombin zamanı, total protein, albumin, bilirubin, total serum kortizolü (TSK) ve kortizol bağlayıcı globulin (KBG) düzeyi çalışıldı. Stimülasyon sonrası 60. dakikada alınan kan örneğinde total serum kortizolü çalışıldı.

Ölçüm ve Değerlendirme

Kronik karaciğer hastalığının derecesi, Child Pugh Turcotte (CPT) skoru ve Model for End Stage Liver Disease (MELD) ile değerlendirildi. Hastalardan alınan kan örneklerinden bakılan AST, ALT, total protein, albümin, bilirubin kolorimetrik yöntemler ile Roche Modular DP Otoanalizöründe (Roche diagnostics, 16 GmBH, Mannheim, Germany), PTZ koagülometrik yöntemle Siemens marka cihazla (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH) ölçüldü. Tam kan sayımı impedans ve optik yöntemler ile ölçüldü (Abbott CELL-DYN 3700). Total serum kortizol düzeyi ECLIA E170 ile ölçüldü.

Kortizol bağlayıcı globulin düzeyi radyoimmünassay ile (CBG-RIA-CT, DIAsource Immunoassays SA, Nivelles, Bel-

gijum), tükürük kortizolü ELISA ile çalışıldı (EUROIMMUN EQ,6141-9601 S, Lübeck, Germany)

Serbest kortizol düzeyi (SKD) Coolens formülü ile aşağıdaki şekilde hesaplandı (13).

$$SKD = \sqrt{(z^2 + 0.0122 \times TSK) - z}$$

$$z = 0.0167 + 0.182 (KBG - TSK)$$

Adrenal Yetmezlik Tanımı

Total kortizol düzeyi esas alınarak, bazal düzeyi <5 µg/dl olan hastalar ile ACTH testi sonrası 1. saatte total kortizolü <18 µg/dl olan veya bazale göre 9 µg/dl'den daha az artış oluşturan hastalar adrenal yetmezlik olarak kabul edildi (17,18).

Serum serbest kortizol düzeyi esas alınarak, ACTH testi sonrası 1. saat düzeyi 33 nmol/L'nin altında olan hastalar adrenal yetmezlik olarak kabul edildi (19-21).

Tükürük kortizolü esas alınarak, bazal düzeyi <1.81 ng/ml veya ACTH testi sonrası bazale göre 3 ng/ml'den az artış sağlayan veya 1. saat düzeyi <4.9 ng/ml olan hastalar adrenal yetmezlik olarak kabul edildi (16).

İstatistiksel Yöntem

Veriler SPSS 18.0 (Statistical Package for Social Science) programı ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Değerler ortalama değer±standart sapma (Alt değer-Üst değer) veya yüzdelik olarak verildi. Gruplar arasındaki değerlerin karşılaştırılmasında Student's t-test, kategorik değişkenlerin analizinde Pearson Ki Kare testi kullanıldı. Çoklu grupların değerlerinin analizinde Anova testi kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman's korelasyon testi kullanıldı. Pearson korelasyon sabiti için p <0.05 anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların 54'ü (%49.1) erkek, 56'sı (%50.9) kadın ve yaş ortalaması 62.1±11 (yaş aralığı;18-81) yıl idi. Etiyolojik olarak 26'sında (%24) hepatit B virüs (HBV) ve 33'ünde (%30) hepatit C virüs (HCV) saptanmış iken, 33'ünde (%30) kriptojenik siroz mevcuttu. Bunların dışında, 7'sinde alkolik, 3'ünde HBV+hepatit Delta virüs, 1'inde otoimmün hepatit, 5'inde primer biliyer siroz ve 2

hastada Budd-Chiari hastalığına bağlı siroz tablosu mevcuttu.

Ortalama bazal total serum kortizolü, tükürük kortizol ve serbest kortizol düzeyleri, siroz hastalarında kontrollere göre, istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı (p<0.0001). Kontrol bireylerine kısa ACTH testi yapılmadığından, 1. saat değerleri verilememiştir. Hasta ve kontrol grubun demografik ve laboratuvar değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmaya alınan hastaların hiçbirinde tanı almış veya şüpheli hepatosellüler kanser (HCC) bulgusu mevcut değildi. Hastaların ortalama MELD skorları 10.7±4.3 ve ortalama Child skorları 7.2±2.3 idi. Child gruplarına göre hastaların demografik, klinik ve laboratuvar değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Hastaların ortalama total serum kortizol düzeyleri Child A, B ve C grupları arasında benzer iken (p=0.788), ACTH testi sonrası 1. saatteki ortalama total kortizol düzeyi Child A'dan C'ye doğru gidildikçe, istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmaktadır (p: 0.046). Ortalama serbest kortizol ve tükürük kortizolünün bazal, 1. saat ve delta değerleri, Child grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p> 0.05) (Tablo 3).

Yüksek (≥12) ve düşük (<12) MELD skoru olan hastaların ortalama bazal total kortizol düzeyleri benzer iken, 1. saat ve delta düzeyleri yüksek MELD skoru olanlarda anlamlı düşük saptanmıştır (sırasıyla, p: .025 ve .007). Tükürük kortizolünün ortalama bazal, 1. saat ve delta değerleri, yüksek ve düşük MELD skoru olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0.05). Ortalama bazal serbest kortizol düzeyi MELD ≥12 olan hastalarda düşük iken, 1. saat ve delta değerleri her iki grup arasında anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0.05).

Ortalama bazal total kortizol düzeyi, serbest kortizol ve tükürük kortizol düzeyleri ile orta derecede korele bulunmuştur (p<0.0001, sırasıyla; r: 0.539, r: 0.502). Bazal ortalama serbest kortizol ve tükürük kortizolü arasında ise iyi derecede korelasyon saptanmıştır (p<0.0001, r: 0.706) (Şekil 1).

Tablo 1. Hasta ve kontrollerin demografik ve laboratuvar değerleri

	Kontrol	Hasta	P değeri
Yaş (yıl)	57.6±6.1	62.1±11.4	.040
Kadın Cinsiyet (%)	15 (50)	56 (50.9)	1.000
Total bazal serum kortizolü (mg/dl)	17.7±2.5	12.7±6.1	.000
Bazal tükürük kortizolü (ng/ml)	2.2±0.1	1.9±0.2	.000
Bazal serbest kortizol (nmol/L)	38.4±9.5	24.4±14.5	.000

Tablo 2. Child gruplarına göre hastaların demografik, klinik ve laboratuvar değerleri

		Tüm hastalar n: 110	Child A n: 56	Child B n: 32	Child C n: 22	P
Yaş (yıl)*		62.1±11.4	60.4±11	66.3±9.8	60.5±11.5	.050
Htc (%)*		36±5.9	39.1±4.3	34.4±6.0	30.7±4.9	.0001
WBC (K/mm ³)*		5.53±2.3	5.09±1.9	5.66±2.2	6.43±3.2	.077
Plt (K/mm ³)*		123.6±73	115.8±60	140.3±95	119.5±69	.315
Alb (gr/dL)*		3.4±0.7	3.9±0.4	3.1±0.5	2.52±0.41	.000
Bil (mg/dL)*		1.82±2.6	1.05±0.5	1.22±0.6	4.66±4.8	.000
PTZ (sn)*		14.9±3.2	13.7±2.3	15.4±3.5	17.1±3.4	.000
MELD skoru*		10.7±4.3	8.5±2.4	11.2±3.2	15.9±4.9	.000
KGB µg/ml*		58.1±33.1	67.1±38.6	53.4±28.3	42.1±8.4	.006
Cr*		0.8±0.3	0.75±0.22	1.01±0.44	0.9±0.4	.002
Na*		137.0±4.6	139.0±3.2	135.4±5.2	134.3±4.6	.000
K*		4.2±0.5	4.3±0.3	4.4±0.6	4.0±0.5	.036
Asit n (%)	Yok	52 (47.3)	46 (82.1)	5 (15.6)	1 (4.5)	.000
	Hafif-orta	20 (18.2)	10 (17.9)	7 (21.9)	3 (13.6)	
	lleri	38 (34.5)	0 (0)	20 (62.5)	18 (81.8)	
Kriptojenik n (%)		33 (30)	11(20)	12(37)	10 (45)	-
HBV n (%)		26 (24)	19 (34)	4 (13)	3 (14)	-
HCV n (%)		33 (30)	19(34)	9 (28)	5 (23)	-
Diğer etyoloji n (%)		18 (16)	7 (2)	7 (22)	4 (18)	-
Peritonit n (%)		10 (9)	0	4 (13)	6 (27)	.003
Ensefalopati n (%)		20 (18.2)	0	7 (22)	13 (59)	.000
Diüretik alan n (%)		53 (48)	10 (18)	25 (78)	18 (82)	.000

*Ortalama değer±Standart Sapma olarak verilmiştir.

Tablo 3. Child gruplarına göre bazal ve test sonrası total serum, tükürük ve serbest kortizol düzeyleri

		Child A	Child B	Child C	Tüm hastalar	p
Total serum kortizolü (µg/dl)*	Bazal	12.6±6.03	13.3±7.1	12.2±5.1	12.7±6.1	.788
	1. saat	29.8±7.7	28.4±9.3	24.6±7.4	28.3±8.3	.046
	Delta	17.1±5.5	15.0±5.7	12.3±4.9	15.6±5.7	.003
Tükürük kortizol (ng/ml)*	Bazal	1.9±0.27	1.9±0.2	2.0±0.3	2.0±0.2	.154
	1. saat	5.4±0.9	5.5±0.7	5.6±1.2	5.5±0.9	.863
	Delta	3.5±0.8	3.5±0.6	3.5±1.0	3.5±0.8	.981
Serbest kortizol (nmol/L)*	Bazal	15.3±1.2	15.7±1.4	15.9±1.6	15.6±1.4	.168
	1. saat	57.8±29.9	49.7±26.0	49.9±21.0	53.9±27.3	.309
	Delta	42.4±30.3	33.9±26.4	33.9±21.9	38.2±27.8	.281

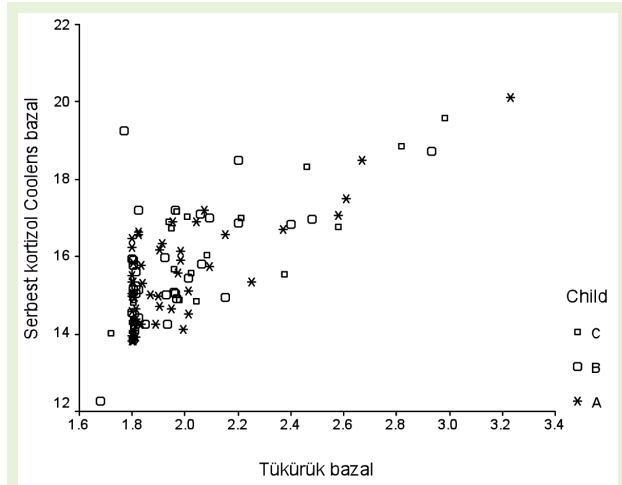
*Ortalama değer±Standart Sapma olarak verilmiştir.

Albumin için ≤ 2.5 g/dl ve > 2.5 g/dl esas alınarak hastalar gruplandırıldığında, ortalama tükürük kortizolü ve serbest kortizolün bazal, 1. saat ve delta düzeyleri, gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$).

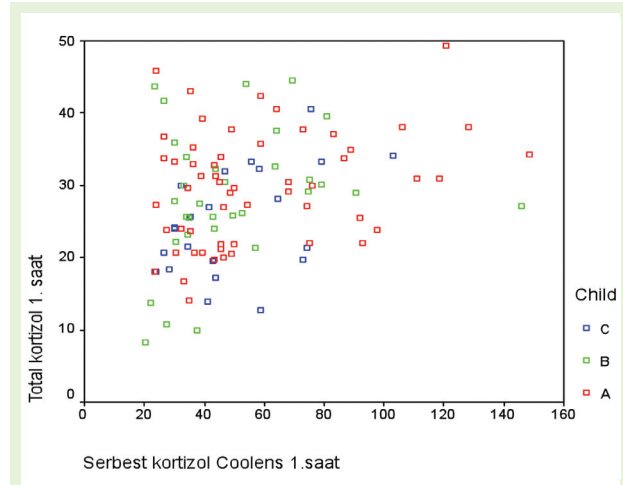
Birinci saat total kortizol düzeyinin serbest kortizol ile korelasyonu zayıf saptandı ($r: 0.308$, $p < 0.001$) (Şekil 2). Birinci saat total kortizol düzeyi eş zamanlı tükürük kortizolü ile de orta derecede pozitif korelasyon gösterdi

($r: 0.505$, $p < 0.0001$). Birinci saatteki tükürük kortizolü ile serbest kortizol arasında daha iyi düzeyde pozitif korelasyon saptandı ($r: 0.613$, $p < 0.0001$).

Child C hastalarda, bazal total kortizol düzeyi ile serbest kortizol düzeyi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon saptandı ($r: 0.521$, $p = 0.013$) (Şekil 2). Child C hastalarda bazal tükürük ve serbest kortizol arasında ise daha iyi derecede pozitif korelasyon saptandı ($r: 0.748$, $p < 0.0001$)



Şekil 1. Bazal tükürük kortizolü ile serbest kortizolün korelasyonu (r:0.706, p<0.0001)



Şekil 2. 1. saat total serum kortizol düzeyinin serbest kortizol ile korelasyonu (r:0.308, p<0.001)

Birinci saat değerlerinde de total kortizolün serbest kortizol ile korelasyonunun daha zayıf olduğu görüldü (r: 0.451, p= 0.035).

Çalışmaya alınan 110 hastanın 33'ünde (%30) bazal total serum kortizolü <9 µg/dl bulundu. ACTH testi sonrası bu hastaların 15'inde (% 13.6) adrenal yetmezlik saptandı. Bazal total kortizol düzeyi >9 µg/dl olan 77 hastanın 8'inde (%7.3) adrenal yetmezlik tanımlandı. Bazal serum kortizol düzeyi <5 µg/dl olan tüm hastalarda ACTH testi ne yetersiz yanıt alındı. Toplam olarak 110 hastanın 23'ünde (%20.9) adrenal yetmezlik saptandı.

Adrenal yetmezlik Child A hastaların %25'inde, Child B hastaların %12.5 ve Child C hastaların %22.7'sinde saptanmış olup, gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p= 0.372).

MELD skoru ≥12 olan 41 (%37.3) hastanın 14'ünde (%34.1), düşük MELD skorlu 69 hastanın ise 9'unda (%13) total kortizol kriterleri ile adrenal yetmezlik saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0.014). Albümin düzeylerine göre değerlendirildiğinde, albumin düzeyi <2.8 g/dl olan hastaların %28'inde, 2.8-3.5 g/dl olan hastaların %30.3'ünde ve >3,5 g/dl olan hastaların %11.5'inde adrenal yetmezlik saptandı. Adrenal yetmez-

lik, düşük albümin gruplarında nispeten daha yüksek oranda belirlenmiş olmakla beraber, fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi (p= 0.071).

Çalışmaya alınan 110 hastanın 19'unda (%17.3) bazal tükürük kortizolü <1.81 ng/ml saptandı. Bu hastaların Child gruplarına göre dağılıma bakıldığında, gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p: 0.612).

Bazal tükürük kortizolü değerlendirildiğinde, MELD skoru 12'nin altında olan 69 hastanın 10'u (%14.5), MELD skoru ≥12 olan 41 hastanın ise 9'unda (%22.5) tükürük kortizolü 1.81 ng/ml'nin altında ölçülmüş olup, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.228)

ACTH testi sonrasında hastaların 96'sında (%86.3) birinci saatte tükürük kortizol düzeyi >4.96 ng/ml saptandı. Bu hastaların tamamında, tükürük kortizolünde bazal değere göre 3 ng/ml'nin üzerinde artış saptandı. 1. saatte ölçülen tükürük kortizol düzeyi <4.96 ng/ml olan hastaların %92.9'unda, delta tükürük kortizol düzeyi <3 ng/ml saptandı. Bu iki ölçüm, birbiri ile istatistiksel olarak mükemmel uyum göstermektedir (kappa: 0.958) (Tablo 4).

Bazal tükürük kortizol düzeyi >1.81 ng/ml olan 91 hastanın 86'sında (%94.5) 1. saat tükürük kortizol düzeyi >4.96 ng/ml ölçüldü. Bazal tükürük kortizol düzeyi <1.81

Tablo 4. ACTH testi sonrası 1. saat ve delta tükürük kortizol düzeylerinin uyumu

n(%)	1. saat TK >4.96	1. saat TK < 4.96	Toplam hasta
Delta TK >3	96 (100)	1 (7,1)	97 (88.2)
Delta TK <3	0 (0)	13 (92.9)	13 (11.8)
Toplam	96 (86.3)	14 (12.7)	110 (100)

(kappa:0.958) (TK: Tükürük kortizolü, ng/ml)

ng/ml olan 19 hastanın 10'unda (%52.6) 1. saat tükürük kortizolü >4.96 ng/ml saptandı. 1. saat tükürük kortizolü >4.96 ng/ml olan bu hastaların tamamı, bazale göre 3 ng/ml'nin üzerinde kortizol artışı sağlamıştır. Bazal değeri >1.81 ng/ml olup, 1. saatte tükürük kortizolü <4.96 ng/ml olan 5 hasta vardı. Bazal ve 1. saat tükürük kortizol düzeyinin bu iki sınır değeri kullanılarak yapılan testler, istatistiksel olarak orta derecede uyum göstermektedir (kappa: 0.467) (Tablo 5).

Bazal tükürük kortizol düzeyi >1.81 ng/ml olan 91 hastanın 86'sında (%94.5) delta tükürük kortizolü >3 ng/ml saptanmıştır. Bazal tükürük kortizol düzeyi <1.81 ng/ml olan 19 hastanın 11'inde (%57.9) delta tükürük kortizolü >3 ng/ml saptanmıştır (kappa:0.418).

Tükürük kortizolüne göre adrenal yetmezliğin bazal, 1. saat ve delta kriterlerinden herhangi birini taşıyan hasta sayısı 24 olup, tüm hastaların %21.8'ini oluşturmaktadır. Fakat bazal tükürük kortizolü <1.81 ng/ml olup, 1. saat tükürük kortizol düzeyi >4.96 ng/ml olan 10 hasta mevcuttur. Benzer şekilde bazal tükürük kortizolü <1.81 ng/ml olup, delta tükürük kortizolü >3 ng/ml saptanan 11 hasta vardır. Tanı kriterlerinin birbiri ile olan tanısallık uyumlarını değerlendirerek, bazal düzeyi <1.81 ng/ml olup, 1. saat tükürük kortizol düzeyi <4.96 ng/ml veya

bazal düzeyi >1.81 ng/ml olup delta <3 ng/ml olanların hepsi olarak adrenal yetmezliği tanımladığımızda, hastaların 14'ü (%12.7) adrenal yetmezlik tanımına uymaktadır.

En geniş haliyle, adrenal yetmezlik için bazal, 1. saat ve delta değerlerinden herhangi birini sağlayan hastalar ile total serum kortizolüne göre adrenal yetmezlik tanısı alan ve almayan hastalar karşılaştırıldığında, total serum kortizolüne göre adrenal yetmezlik tanısı alan 23 hastanın 15'i (%65.2) tükürük için yetmezlik kriterlerinden herhangi birini sağlamadı. 23 hastanın diğer 8'i (%34.8) ise tükürük kriterlerinden en az bir tanesini sağlayabildi. Bu iki testin tanısallık anlamında uyumu oldukça zayıftır (kappa: 0.161) (Tablo 6).

Serbest kortizol esas alınarak değerlendirilen adrenal yetmezlik, tüm hastaların %15.5'inde saptandı. Serbest kortizole göre adrenal yetmezlik tanısında, Child (p=0.681) ve albümin (p=0.365) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Serbest serum kortizol düzeyinin <33 nmol/L olmasına göre adrenal yetmezlik tanısı konduğunda, yüksek MELD skorlu hastaların %24.4'ü yetmezlik grubuna girerken, düşük MELD skorlu hastaların %10.1'i bu kriteri sağladı. Yüksek MELD skorlu hastaların daha büyük bir kısmında serum serbest

Tablo 5. Bazal ve ACTH sonrası 1. saat tükürük kortizol düzeylerinin uyumu

n (%)	Bazal TK >1.81	Bazal TK <1.81	Toplam hasta
1. saat TK >4.96	86 (94.5)	10 (52.6)	96 (87.3)
1. saat TK <4.96	5 (5.5)	9 (47.4)	14 (12.7)
Toplam	91 (83.7)	19 (17.3)	110 (100)

(kappa:0.467) (TK: Tükürük kortizolü, ng/ml)

Tablo 6. Tükürük ve total serum kortizol kriterleri ile adrenal yetmezlik

n (%)	Total serum kortizolüne göre AY (+)	Total serum kortizolüne göre AY (-)	Tüm hastalar
Tükürük kriterlerinden herhangi biri (+)	8 (34.8)	16 (18.4)	24 (21.8)
Tükürük kriterlerinden herhangi biri (-)	15 (65.2)	71 (81.6)	86 (78.2)
Toplam	23 (20.9)	87 (79.1)	110 (100)

(kappa:0.161) AY: Adrenal yetmezlik.

Tablo 7. Serbest serum kortizol düzeylerine göre MELD gruplarında adrenal yetmezlik

n (%)	MELD <12	MELD ≥12	Toplam hasta
Serbest kortizol >33 nmol/L	62 (89.9)	31 (75.6)	93 (84.5)
Serbest kortizol <33 nmol/L	7 (10.1)	10 (24.4)	17 (15.5)
Tüm hastalar	69 (62.7)	41 (37.3)	110 (100)

(p=0.044)

kortizol düzeyi <33 nmol/L saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.044$) (Tablo 7).

ACTH testi sonrası total serum kortizolüne göre adrenal yetmezlik tanısı alan 23 hastanın 9'unda (%39.1) serbest serum kortizol düzeyi <33 nmol/L saptandı. Bunun yanında, total kortizole göre adrenal yetmezlik saptanmayan hastaların %9.2'sinde de serbest kortizol <33 nmol/L saptandı. Bu iki testin adrenal yetmezlik için tanısal uyumu istatistiksel olarak zayıftır ($kappa: 0.331$).

TARTIŞMA

Karaciğer sirozunda adrenal yetmezlik yüksek oranlarda bildirilmiştir. Bu çalışmalar, dahil edilen hastaların klinik bulguları ve tanıda kullanılan kriterler açısından değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda adrenal yetmezliği tanımlayan düşük doz ACTH testindeki bozukluklar, infeksiyonu veya hemodinamik bozukluğu olmayan siroz hastalarının %20.9'unda saptanmıştır. Stabil siroz hastalarının alındığı, fakat bazal kortizolü 9 µg/dl'nin altında olan hastaların da adrenal yetmezlik olarak kabul edildiği bir çalışmada bildirilen %33 yetmezlik oranı, bekleneceği üzere kendi sonucumuzdan yüksektir (16). Transplantasyon bekleyen stabil hastalarda adrenal yetmezlik %39 olarak bildirmiştir (22). Transplantasyon bekleme listesinde oldukça sık kullanılan bir skorlama sistemi olan MELD'e göre değerlendirme yapıldığında, MELD skoru 12 ve üzerinde olan hastalarımızda adrenal yetmezlik %34.1 olarak saptanmıştır. MELD skoru 12'nin altında olanlarda ise bu oran %13 olup, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.014$). Literatürde adrenal yetmezliğin %38 olarak bildirildiği bir diğer çalışmada, hastaların %72'si Child B ve C olup, yetmezlik saptanan hastaların ortanca MELD skoru 17'dir (1). Çalışmamızda yüksek MELD skorlu hastalar grubun sadece %37.3'ünü oluşturduğundan adrenal yetmezlik prevalansımız, bu çalışmalara göre düşük saptanmış olabilir. Pik kortizol <18 µg/dl olarak tanımlanan adrenal yetmezliğin hastaların %7.2'sinde bulunduğunu ve yetmezlik saptanan hastaların hepsinin Child C olduğunu bildiren bir diğer çalışmada, delta kortizol düzeylerindeki yetersiz artış adrenal yetmezlik olarak sınıflanmadığı için, yetmezlik oranları çalışmamız ve literatürdeki diğer sonuçlara göre düşüktür (23). Çalışmalara alınan hastaların kronik karaciğer hastalığının şiddeti açısından farklılıklar göstermesi ve adrenal yetmezlik tanımlamasında kullanılan farklı kriterler, stabil hasta gruplarında yapılmış benzer çalışmalarda bile farklı prevalans sonuçlarına neden olabilmektedir.

Serumda kortizolün %90'dan fazlası KBG ve albumine bağlıdır (12). Kortizolün serbest ve proteine bağlı fraksi-

yonlarının toplamını ölçen standart yöntemlere dayanarak adrenal yetmezlik tanısı konması, bu proteinlerin düşük olduğu karaciğer yetmezliği gibi durumlarda yanlış tanıya yol açabilecektir. Çalışmamızda, literatür bilgileri ile uyumlu olarak Child A'dan C'ye doğru KBG düzeyi anlamlı olarak düşmüştür (16, 23). Hamrahian ve ark (10) kritik düzeyde ağır hastalığı ve hipoproteinemisi olan, bazal ve ACTH uyarı testi sonrası yetersiz kortizol düzeyi olup adrenal yetmezlik tanısı almış hastalarının tamamında, kontroller ile karşılaştırdıklarında, yeterli düzeyde bazal ve uyarı sonrası artmış serbest kortizol düzeyi göstermişlerdir. Bu veri, hipoproteinemisi olan hastaların, normal serbest kortizol düzeylerine rağmen, total kortizole dayanarak yanlış adrenal yetmezlik tanısı alabileceklerine işaret etmekte ve bu hasta gruplarında total kortizolün tanısal doğruluğunu sorgulatmaktadır. Çalışmamızda albumininin 2.8-3.5 gr/dl'ye göre yapılan gruplamasında, serum total kortizolünün ortalama bazal değerleri için gruplar arasında fark gözlenmez iken, ACTH sonrası ortalama 1. saat ve delta kortizol düzeyleri, hipoalbuminemi olan hastalarda istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.0001$). Düşük albumin ve KBG düzeylerini, ACTH testine düşük kortizol yanıtı ile ilişkilendiren bir çalışmada, düşük albumin ($\leq 2.5g/dL$) grubunda, ACTH sonrası 1. saatte düşük kortizol yanıtı elde edilirken, serbest kortizol düzeylerinde gruplar arasında farklılık gösterilmemiştir (23). Çalışma verilerimiz bu bulgular ile uyumludur.

Çalışmamızda, ortalama bazal kortizol düzeylerinin Child grupları arasında benzer iken ($p=0.788$), 1. saat ve delta kortizol düzeylerinin, Child A'dan C'ye doğru gidildikçe azalması (sırasıyla 1. saat ve delta değerler için, $p=0.046$ ve $p=0.003$) ve yüksek MELD skoru olan hastalarda da benzer seyirin izlenmesi, ACTH testine yanıtta bazal total kortizol değerinden ziyade 1. saat ve delta kortizol düzeylerinin, kronik karaciğer hastalığının şiddeti ile uyumlu olarak yetersiz olduğunu düşündürmektedir. Literatür bilgileri ile uyumlu olarak Child A'dan C'ye doğru anlamlı olarak düştüğünü gözlediğimiz KBG düzeyi bu farklılıkta etkili olabilir (16, 23). ACTH testine yanıt olarak artan kortizolün, KBG bağlanma kapasitesini aşması, kortizol düzeyini düşük ölçmemize neden olabilir. Thevonet ve ark da (23) yüksek MELD skoru, düşük albumin ve KBG olan hastaların ACTH testine daha kötü yanıt verdiğini, kortizol artışının diğer hastalara göre düşük olduğunu bildirmişlerdir.

ACTH testi sonrası pik serbest kortizol düzeyinin 33 nmol/L'den düşük olmasının adrenal yetmezliği yansıttığı bildirilmiştir (19-21). Çalışmamızda, Coolens formülü ile hesaplanan serbest serum kortizol düzeylerine göre has-

ularımızın %15.5'inde adrenal yetmezlik saptanmıştır. Stabil kronik karaciğer hastalarında total kortizole göre adrenal yetmezliğin %58 saptandığı bir çalışmada, yetmezlik kabul edilenlerin bazal serbest serum kortizol düzeylerinde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Aynı çalışmada, direk ölçülen serbest kortizole göre adrenal yetmezlik, hastaların %12'sinde bildirilmiştir (2). Adrenal yetmezlik saptanan hastaların tamamı da anlamlı olarak yüksek MELD skoruna sahiptir (19 ± 3.2 'ye karşı 13 ± 0.8). Takipte ise bu hastalarda yüksek mortalite bildirilmiştir. Çalışmamızda da, MELD skoru 12 ve üzeri hastaların %24.4'ü serbest serum kortizolüne göre adrenal yetmezlik olup, bu oran düşük MELD grubuna göre anlamlı olarak yüksektir ($p=0.044$).

Tükürükte ölçülen kortizolün serbest serum kortizolü ile denge halinde ve iyi derecede korele olduğu bildirilmiştir (24). Çalışmamızda, bazal tükürük kortizolü ile serbest kortizol arasında güçlü korelasyon saptanmıştır ($r: 0.706$, $p<0.0001$). Golbios ve ark. (16) da bu değerler arasında mükemmel korelasyon bildirmişlerdir ($r: 0.91$, $p<0.0001$). Aynı çalışmada total serum kortizolü ile serbest kortizol arasında daha zayıf ama pozitif korelasyon saptanmıştır ($r: 0.76$, $p<0.0001$). Total kortizole göre hastaların %33'ünde adrenal yetmezlik saptanan bu çalışmada, tükürük kortizolüne göre ise adrenal yetmezlik %9.1 olarak bildirilmiştir. Tükürük kortizolüne göre adrenal yetmezliği ise, bazal <1.8 ng/ml, delta <3 ng/ml veya 1. saat <12.7 ng/ml koşullarından herhangi birini sağlamak olarak tanımlamışlardır.

Adrenal yetmezlik tanısında, bazal, 1. saat ve delta tükürük kortizolünün eşik değerleri için standartlar oluşmuştur. Literatürde bazal için 1.81 ng/ml (25), delta için 3 ng/ml (26) önerilirken, bazal ve 1. saat için sırasıyla, 1.81 ng/ml ve 11.7 ng/ml olarak da bildirilmiştir (19). Bir diğer çalışma ise 1. saat için eşik değeri 4.9 ng/ml olarak belirlemiştir (27). Çalışmamızda tüm hastaların ortalama bazal tükürük kortizolü 1.98 ± 0.28 ng/ml ($1.68-3.23$) saptanmıştır. 30 sağlıklı kontrolde bazal tükürük kortizolünün ortalaması 2.20 ± 1.72 ng/ml ($1.88-2.58$) olup, kontrollerin hiçbirinde tükürük kortizolü <1.81 ng/ml ölçülmemiştir. ACTH sonrası 1. saat ortalama tükürük kortizolü düzeyi ise 5.52 ± 0.95 ng/ml ($4.05-9.24$) olup, ölçülen en yüksek değer 9.24 ng/ml idi. Tükürük kortizolü ölçümü için çalışmalarda kullanılan farklı yöntem ve kitlerden dolayı bildirilen ortalama ve eşik değerler oldukça değişkendir ve henüz adrenal yetmezlik tanısında kullanılacak standart kriterler oluşmamıştır. Bu nedenle biz çalışmamızda tükürük kortizolünün bazal 1.81 ng/ml, 1. saat 4.96 ng/ml ve delta için 3 ng/ml değerlerini eşik değerler olarak aldık.

Çalışmamızda, tükürük kortizolüne göre adrenal yetmezliğin yapılabilecek en geniş tanımlaması ile, bazal, 1. saat ve delta kriterlerinden herhangi birini taşıyan 24 hasta (%21.8) saptanmıştır. Bu oran, Golbios ve ark.'nın (16) bildirdiği %9.1'e göre oldukça yüksektir. Çalışmamızdaki 110 hastanın 19'unda (%17.3) bazal tükürük kortizolü <1.81 ng/ml saptanmıştır. Bu 19 hastanın 10'unda birinci saat tükürük kortizolü > 4.96 ng/ml olup, bazale göre 3 ng/ml'nin üzerinde, yani literatür bilgilerine göre yeterli sayılan kortizol artışı sağlanmıştır (26). Bu nedenle, bazal değeri düşük olup, 1. saatte tükürük kortizol düzeyi >4.96 ng/ml saptanan bu 10 hastanın adrenal yetmezlik tanısı alması şüphelidir.

Bazal değeri >1.81 ng/ml olup, 1. saatte tükürük kortizolü <4.96 ng/ml olan 5 hasta vardır. 1. saatte ölçülen tükürük kortizol düzeyi <4.96 ng/ml olan hastaların %92.9'unda delta tükürük kortizol düzeyi <3 ng/ml saptandığına göre, bu 5 hastanın da, bazal değeri yüksek olsa da yeterli tükürük kortizol artışı sağlayamaması nedeniyle adrenal yetmezlik olarak kabul edilmesi daha uygundur. Bazal tükürük kortizol düzeyi <1.81 ng/ml olan 19 hastanın 11'inde delta tükürük kortizolünde 3 ng/ml artışı sağlandığından, bu hastalarda, uyarı testi ile tükürük kortizolünde yeterli artışın olduğu kabul edilmelidir. Delta ve 1. saat değerlerinin tanısız uyumu oldukça yüksek ($kappa: 0.958$) olduğundan, bu kriterlerden ikisini sağlamayan hastaların adrenal yetmezlik olarak kabul edilmemesi sonucu çıkarılabilir.

Çapraz tabloların verdiği bu sonuçlara göre, bazal değeri <1.81 ng/ml'den düşük ve 1. saat değeri 4.96 ng/ml'nin altında olanlar (9 hasta) ile bazal >1.81 ng/ml olup, 1. saat değeri 4.96 ng/ml'nin altında olanlar (%100'ünde delta 3 ng/ml'den düşük) (5 hasta) adrenal yetmezlik kabul edildiğinde, hastalarımızın 14'ünde (%12.7) adrenal yetmezlik saptadığı sonucunu çıkarabiliriz.

Thevonet ve ark. (23) ACTH testi ile adrenal yetmezlik saptanan siroz hastalarında, tükürük ve serbest kortizolün bazal düzeylerini benzer, 1. saat değerlerini ise yetmezlik grubunda daha yüksek saptamışlardır. Child grupları arasında ve düşük albümin grubunda, serum kortizol düzeyi düşerken, tükürük ve serbest kortizol düzeylerinin bu parametrelerden bağımsız olduğu sonucunu çıkarmışlardır. Eşik değerler ile ilgili karmaşadan dolayı ise tükürük ve serbest kortizol düzeylerine göre adrenal yetmezlik oranlarını bildirmemişlerdir.

Golbios ve ark. (16) adrenal yetmezlik tanısında, tükürük ve total kortizol kriterlerinin uyumunu ileri derecede düşük olarak belirlemişlerdir ($kappa: 0.28$). Multivaryant analizde, bu iki testin uyumsuzluğunu belirleyen tek faktörün hipalbuminemi olduğunu ortaya koymuşlardır. Kendi çalış-

mamızda da, total kortizol kriterleri ile adrenal yetmezlik saptadığımız hastalarımızın sadece %34'ü tükürük için kabul edilen kriterlerden herhangi birini saptamış olup, bu iki test tanı için uyumsuz saptanmıştır (kappa: 0.161).

Çalışmamızın kısıtlı olduğu bazı noktalar vardır. Bazal değerlerin karşılaştırılması için sağlıklı kontroller alınmış olmakla beraber, ACTH testi yapılan kontrol grubumuz olmadığı için, kendi laboratuvar ve kitimiz için 1. saat ve delta değerlerini belirleyemedik.

KAYNAKLAR

1. Fede G, Spadaro L, Tomaselli T, et al. Assessment of adrenocortical reserve in stable patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2011;54:243-50.
2. Tan T, Chang L, Woodward A, et al. Characterizing adrenal function using directly measured plasma free cortisol in stable liver disease. *J Hepatol* 2010;53:841-8.
3. Marik PE, Gayowsky T, Starzl TE. The hepatoadrenal syndrome: A common yet unrecognized clinical condition. *Crit Care Med* 2005;33:1254-9.
4. Tsai MH, Peng YS, Chen YC, et al. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis, severe sepsis and septic shock. *Hepatology* 2006;43:673-81.
5. Harry R, Auzinger G, Wendon J. The clinical importance of adrenal insufficiency in acute hepatic dysfunction. *Hepatology* 2002;36:395-402.
6. Thierry S, Giroux Leprieur E, Lecuyer L, et al. Echocardiographic features, mortality and adrenal function in patients with cirrhosis and septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008;52:45-51.
7. Fernandez J, Escorsell A, Zabalza M, et al. Adrenal insufficiency in patients with cirrhosis and septic shock: Effect of treatment with hydrocortisone on survival. *Hepatology* 2006;44:1288-95.
8. Thevenot T, Borot S, Remy-Martin A, et al. Assessing adrenal function in cirrhotic patients: Is there a reliable test? *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33:584-8.
9. Basic and clinical endocrinology. 7th ed. Greenspan FS, Gardner DG. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2004.
10. Hamrahian AH, Oseini TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Eng J Med* 2004;350:1629-38.
11. Gatti R, Antonelli G, Prearo M, et al. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clin Biochem* 2009;42:1205-17.
12. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlaygeh 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.
13. Coolens JL, Van Baelen H, Heyns W. Clinical use of unbound plasma cortisol as calculated from total cortisol and corticosteroid-binding globulin. *J Steroid Biochem* 1987;26:197-202.
14. Annane D, Sebille V, Charpentier C, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002;288:862-71.
15. Gröschl M. Current status of salivary hormone analysis. *Clin Chem* 2008;54:1759-69.
16. Galbois A, Rudler M, Massard J, et al. Assessment of adrenal function in cirrhotic patients: salivary cortisol should be preferred. *J Hepatol* 2010;52:839-45.
17. Williams Text Book of Endocrinology. 11th edition. Edited by Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. Philadelphia, PA, Saunders; 2008.
18. Marik PE, Pastores SM, Annane D, et al. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients.: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2008;36:1937-49.
19. Deutschbein T, Unger N, Mann K, Petersenn S. Diagnosis of secondary adrenal insufficiency in patients with hypothalamic-pituitary disease: comparison between serum and salivary cortisol during high-dose short synacthen test. *Eur J Endocrinol* 2009;160:9-16.
20. Lewis JG, Bagley CJ, Elder PA, et al. Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid binding globulin. *Clin Chim Acta* 2005;359:189-94.
21. Vogeser M, Briegel J, Zachoval R. Dialyzable free cortisol after stimulation with Synacten. *Clin Biochem* 2002;35:539-43.
22. Mc Donald JA, Handelsman DJ, Dilworth P, et al. Hypothalamic-pituitary adrenal function in end-stage non-alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1993;8:247-53.
23. Thevenot T, Borot S, Remy-Martin A, et al. Assessment of adrenal function in cirrhotic patients using concentration of serum-free and salivary cortisol. *Liver Int* 2011;31:425-33.
24. Arafah BM. Review: Hypothalamic pituitary adrenal function during critical illness: Limitation of current assessment methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3725-45.
25. Deutschbein T, Unger N, Mann K, Petersenn S. Diagnosis of secondary adrenal insufficiency: unstimulated early morning cortisol in saliva and serum in comparison with the insulin tolerance test. *Horm Metab Res* 2009;41:834-9.
26. Perogamvros I, Owen LJ, Keevil BG, et al. Measurement of salivary cortisol with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in patients undergoing dynamic endocrine testing. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010;72:17-21.
27. Cardosa E, Persi G, Arregger AL, Contreras LN. Assessment of corticoadrenal reserve through salivary steroids. *The Endocrinologist* 2002;12:38-44.