

**КУРИЦЫНА**

Наталья Валерьевна

**ПРЕДИКТОРЫ РЕМИССИИ БОЛЕЗНИ КУШИНГА ПОСЛЕ  
ТРАНССФЕНОИДАЛЬНОЙ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ АДЕНОМЭКТОМИИ**

14.01.02 – Эндокринология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Гринева Елена Николаевна

доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор **Гринева Елена Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Рожинская Людмила Яковлевна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение нейроэндокринологии и остеопатий, руководитель

**Астафьева Людмила Игоревна**, доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нейрохирургии с курсами нейронаук, профессор

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.054.03 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2, [www.almazovcentre.ru](http://www.almazovcentre.ru)).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2, [www.almazovcentre.ru](http://www.almazovcentre.ru)).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.054.03,  
кандидат медицинских наук

Леонова Ирина Александровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность и степень разработанности темы исследования

Болезнь Кушинга (БК) - тяжелая эндокринная патология, вызванная хроническим гиперкортицизмом вследствие избыточной секреции адренокортикотропного гормона (АКТГ) аденомой гипофиза (Newell-Price J. et al., 1999; Bertagna X., 2009; Мельниченко Г.А. и др., 2015). Заболеваемость БК составляет около 1,2-2,4 новых случая на 1 миллион населения в год (Extabe J. et al., 1994; Clayton R.N. et al., 2011), болеют в основном молодые люди – средний возраст на момент диагностики составляет около 30-40 лет (Zada G. et al., 2013), чаще женщины – соотношение женщин и мужчин составляет около 8:1 (van Haalen F.M. et al., 2015; Valassi E. et al., 2010). При отсутствии адекватного и своевременного лечения и сохранении гиперкортицизма, 5-летняя смертность пациентов с БК превышает общепопуляционную, достигая 50% (Plotz C.M. et al., 1952).

Методом выбора лечения БК в настоящее время является трансфеноидальная аденомэктомия (ТСА), в частности – трансфеноидальная эндоскопическая аденомэктомия (Biller B.M.K. et al., 2008; Ciato D. et al., 2017). Однако, даже у опытных нейрохирургов, ТСА не всегда приводит к успеху - частота ремиссии болезни Кушинга после операции варьирует от 58 до 90% (Ambrogio A.G. et al., 2017; Pouratian N. et al., 2007).

В этой связи ведется активный поиск признаков, которые бы могли предсказывать ремиссию БК после ТСА. Большинство предлагаемых прогностических критериев – это результаты пред- и послеоперационного обследования больных БК.

Такие клинические признаки, как возраст, пол, длительность заболевания, характер и тяжесть симптомов гиперкортицизма, по данным большинства исследований, не влияют на прогноз (Ayala A. et al., 2014; Pendharkar A.V., 2015). Из биохимических предоперационных предикторов некоторые исследователи предлагают использование уровня АКТГ (Kuo C.H. et al., 2016) и свободного кортизола в суточной моче (Sonino N. et al., 1996), так как более низкие значения данных показателей были обнаружены у пациентов, достигших ремиссии. Однако, пороговые значения этих показателей, а также их специфичность и чувствительность в прогнозировании ремиссии авторы не указывают.

Из результатов предоперационного обследования в качестве прогностических критериев наиболее часто используют данные магнитно-резонансной томографии (МРТ) гипофиза с контрастированием, а именно, размеры аденомы. Однако, наряду с сообщениями о более частом развитии ремиссии БК после ТСА у пациентов с микроаденомами гипофиза по сравнению с макроаденомами (Prevedello D.M. et al., 2008; Petersenn S., 2015; Марова Е.И. и др., 2016), существуют исследования, в которых не выявлено значимой связи размера образования гипофиза с результатами оперативного вмешательства (Starke R.M. et al., 2013; Fomekong E. et al., 2009). По данным других исследователей, на прогноз влияет не столько размер, сколько характер роста аденомы гипофиза: инвазия в кавернозный синус ассоциирована со снижением частоты ремиссии БК после ТСА (Machado M.C. et al., 2016; Ciric I. et al., 2012).

Из прогностических критериев, основанных на результатах послеоперационного обследования, в настоящее время чаще всего используют лабораторные показатели – оценку уровня кортизола и АКТГ в крови (Pendharkar A.V., 2015; Ioachimescu A.G., 2019, Надеждина Е.Ю. и др., 2018). Пороговые значения кортизола сыворотки в прогнозировании ремиссии БК после ТСА отличаются у разных авторов: от 50-55 нмоль/л (Lindsay J.R. et al., 2011; Ironside N. et al., 2018) до 579,6 нмоль/л (Acebes J.J. et al., 2007). Уровень АКТГ, предсказывающий ремиссию, также варьирует: от 5 пг/мл (Hameed N. et al., 2013) до 20 пг/мл (El Asmar N. et al., 2018).

Наличие надпочечниковой недостаточности в раннем послеоперационном периоде считают надежным критерием развития ремиссии БК, однако в ряде исследований показано, что низкий и даже неопределяемый уровень кортизола в послеоперационном периоде не позволяет исключить наличие гиперкортицизма при дальнейшем наблюдении (Costenaro F. et al., 2014; Yap L.P. et al.,

2002). С другой стороны, сохранение гиперкортицизма в раннем послеоперационном периоде не всегда указывает на персистенцию заболевания (Valassi E. et al., 2010).

Значительно реже авторы предлагают в качестве предикторов ремиссии БК после ТСА результаты послеоперационных диагностических тестов: пробы с 1 мг дексаметазона (Chen J.C.T. et al., 2003), теста с кортикотропин-рилизинг гормоном (КРГ) (Barbot M. et al., 2013), десмопрессинном (Romanholi D.J.P.C. et al., 2008), а также комбинированного теста с десмопрессинном и дексаметазоном (LeMarc'hadour P. et al., 2015). Пороговые значения кортизола и/или АКТГ при оценке результатов проб отличаются у всех авторов.

Кроме того, существенные различия обнаруживаются и в сроках оценки перечисленных выше предикторов ремиссии БК: чаще в первые сутки (Acebs J.J. et al., 2007; Nameed N. et al., 2013) и через 2 недели после операции (Costenaro F. et al., 2014). Наряду с этим, существуют работы, в которых оценку предикторов рекомендуют проводить в более поздние сроки – до полугода после операции (Barbot M. et al., 2013).

В качестве прогностического критерия ремиссии БК после ТСА некоторые авторы предлагают использование иммуногистохимического подтверждения экспрессии АКТГ клетками удаленного образования гипофиза (Valassi E. et al., 2010; Costenaro F. et al., 2014). По данным других исследований, факт того, что удаленный материал по результатам иммуногистохимического исследования (ИГХИ) – это кортикотропинома, не увеличивает вероятность ремиссии (Bansal P. et al., 2017). Уровень индекса пролиферации Ki-67 также не влияет на прогноз (Liu X. et al., 2018), однако, эти данные противоречивы (Лапшина А.М., 2009).

Таким образом, несмотря на большое количество прогностических критериев ремиссии БК после ТСА, на сегодня отсутствует единое мнение относительно выбора наиболее оптимальных параметров (либо их комбинации), их пороговых значений и времени оценки. Наиболее часто рекомендуемые предикторы ремиссии БК после ТСА отражают главным образом то, насколько радикально была удалена кортикотропинома (показатели секреции кортизола и АКТГ в раннем послеоперационном периоде), а также саму возможность ее радикального удаления (размер аденомы по результатам МРТ, инвазия в кавернозные синусы). Однако, они имеют ограничения, которые были описаны выше, и не позволяют выявить различия в биологическом поведении кортикотропином, которое также оказывает влияние на прогноз БК после ТСА.

Попытки определения маркеров биологического поведения кортикотропиномы предпринимались различными авторами, однако до сих пор этот вопрос остается открытым. Отражением поведения опухоли являются, в определенной степени, размер и инвазия аденомы, однако эта корреляция не всегда прослеживается (Machado M.C. et al., 2016; Лапшина А.М. и др., 2015). В настоящее время активно изучаются молекулярные механизмы биологического поведения кортикотропиномы (Albani A., 2018). Существует предположение о том, что возможной причиной развития кортикотропином является изменение экспрессии кортикотрофинами рецепторов к факторам, контролирующим их рост, пролиферацию и секреторную активность, а именно: к КРГ, соматостатину, дофамину, вазопрессину (Дедов И.И., 2012). Также существуют данные о том, что АКТГ-секретирующие опухоли экспрессируют рецепторы к кортизолу (Machado M.C. et al., 2016). Несмотря на то, что кортикотропиномы автономно секретируют АКТГ, известно об их способности в той или иной степени отвечать на воздействие кортизола, то есть о сохранении механизмов отрицательной обратной связи. Доказательством этой теории является тот факт, что после двусторонней адреналэктомии у ряда пациентов отмечается рост аденомы гипофиза – синдром Нельсона (Мельниченко Г.А. и др., 2015). Таким образом, биологическое поведение кортикотропиномы может зависеть от экспрессии рецепторов к кортизолу. Чем она меньше, тем меньшее влияние на активность опухоли могут оказывать глюкокортикоидные гормоны и тем более агрессивным может быть ее поведение.

Различиями в экспрессии рецепторов кортизола кортикотропиномой у разных пациентов может быть объяснена разница в степени снижения кортизола в ответ на экзогенное введение глюкокортикостероидов, в частности, при проведении большого дексаметазонового теста (БДТ).

Мы предположили, что чем выше биологическая активность кортикотропиномы и, как следствие, ее автономность, тем ниже степень подавления кортизола в БДТ в связи с более выраженным нарушением регуляции секреции АКТГ по механизму обратной связи, что может быть использовано в оценке прогноза ремиссии БК после ТСА.

### **Цель исследования**

Изучить данные предоперационного и послеоперационного обследования пациентов с болезнью Кушинга для выявления среди них предикторов ремиссии гиперкортицизма после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

### **Задачи исследования**

1. Проанализировать результаты клинического и лабораторного обследования пациентов с болезнью Кушинга, которым была выполнена трансфеноидальная эндоскопическая аденомэктомия, для выявления предикторов ремиссии гиперкортицизма после операции.
2. Оценить возможность использования полученных у пациентов с болезнью Кушинга до операции данных магнитно-резонансной томографии гипофиза и большого дексаметазонового теста для прогнозирования ремиссии гиперкортицизма после хирургического вмешательства.
3. Изучить показатели секреции адренокортикотропного гормона и кортизола в раннем послеоперационном периоде и определить их пороговые значения, которые могут быть использованы в качестве предикторов ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.
4. Сравнить показатели секреции адренокортикотропного гормона и кортизола на 2-3 и 12-14 день после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии и выбрать наиболее оптимальный срок их оценки для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга.
5. Определить оптимальный объем обследования пациентов с болезнью Кушинга для прогнозирования ремиссии гиперкортицизма после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

### **Научная новизна**

1. Получены данные о том, что размер аденомы гипофиза имеет прогностическое значение в отношении ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии только в случаях отсутствия инвазивного роста образования.
2. Показано, что результаты большого дексаметазонового теста, выполненного до операции, могут быть использованы для прогноза ремиссии гиперкортицизма после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии у пациентов с болезнью Кушинга.
3. Определены пороговые значения показателей секреции адренокортикотропного гормона и кортизола, а также сроки их оценки в раннем послеоперационном периоде, позволяющие прогнозировать ремиссию гиперкортицизма после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии у пациентов с болезнью Кушинга.
4. Выявлено сочетание предоперационных и послеоперационных показателей, оптимальное для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическое значение работы состоит в том, что полученные данные дополняют научные знания о возможностях прогнозирования ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

Продемонстрирована возможность использования результатов предоперационного обследования, а именно: магнитно-резонансной томографии гипофиза с контрастированием и большого дексаметазонового теста, в качестве предикторов ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

Установлены показатели секреции адренокортикотропного гормона и кортизола, их пороговые значения и сроки оценки в раннем послеоперационном периоде для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга.

Определен оптимальный объем пред- и послеоперационного обследования пациентов для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.

### **Методология и методы исследования**

В исследование включили 101 пациента с БК, с подтвержденным после ТСА диагнозом. Все пациенты обследовались и лечились в эндокринологических и нейрохирургическом отделениях ФГБУ «Национальный Медицинский Исследовательский Центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России (генеральный директор академик Е.В. Шляхто) в период 2010-2018 г. Работа проведена в дизайне ретроспективного и проспективного клинического исследования.

Для реализации поставленной цели использовались клинические, лабораторные, иммуногистохимические, инструментальные методы исследования, а также статистическая обработка полученных данных.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Такие данные предоперационного обследования, как характер роста и размеры аденомы гипофиза по результатам магнитно-резонансной томографии, а также степень подавления кортизола сыворотки в большом дексаметазоновом тесте, могут быть использованы в качестве предикторов ремиссии/отсутствия ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии
2. Лабораторные параметры (кортизол сыворотки, адренокортикотропный гормон плазмы, свободный кортизол в суточной моче), оцениваемые на 2-3 и 12-14 сутки после операции, обладают сопоставимо высокими чувствительностью и специфичностью в прогнозировании ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.
3. Сочетание предоперационных (результаты магнитно-резонансной томографии гипофиза с контрастированием, большого дексаметазонового теста) и послеоперационных (кортизол сыворотки утром или наличие вторичной надпочечниковой недостаточности на 2-3 сутки после операции) предикторов значительно увеличивает вероятность ремиссии болезни Кушинга.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности результатов обеспечивается достаточным числом обследованных участников исследования в группах, использованием комплекса современных методов исследований и статистической обработки данных в соответствии с поставленными целью и задачами.

Материалы диссертации были представлены в виде устных и постерных докладов на российских и международных конференциях и конгрессах: European NeuroEndocrine Association Congress (София, 2014); Международный конгресс «Артериальная гипертензия – от Короткова до наших дней» (Санкт-Петербург, 2015); Научная сессия «От трансляционных исследований к инновациям» (Санкт-Петербург, 2015); Международный конгресс «Артериальная гипертензия – от Короткова до наших дней» (Санкт-Петербург, 2016); Всероссийская конференция с международным участием «Командный подход в современной эндокринологии» (Санкт-Петербург, 2016); 5th European NeuroEndocrine Association Workshop (Санкт-Петербург, 2017); European Congress of Endocrinology (Лиссабон, Португалия, 2017), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы эндокринологии» (Санкт-Петербург, 2017); 18th European Congress of Endocrinology (Мюнхен, Германия, 2016); конкурс молодых специалистов в рамках «Ежегодной Санкт-Петербургской Школы эндокринологов», награждение дипломом III степени (Санкт-Петербург, 2016), European Congress of Endocrinology (Барселона, 2018); European Congress of Endocrinology (Лион, Франция, 2019), Национальный Конгресс эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва, 2019), XIV международный научный конгресс «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2019).

По материалам диссертации опубликовано 4 печатные работы в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий» Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации; 13 тезисов как в отечественных (7), так и в зарубежных (6) сборниках трудов научных конференций. Получен патент на изобретение № 2699218 «Способ диагностики МРТ-негативных АКТГ-продуцирующих аденом гипофиза» от 03.09.2019 г.

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования внедрены в практическую работу эндокринологических и нейрохирургических отделений Клиники, а также в учебный процесс Института постдипломного образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России.

### **Личный вклад диссертанта**

Личный вклад автора включал планирование исследования, проведение обзора литературы по тематике работы, участие во всех этапах работы с пациентами (набор пациентов в исследование, их ведение в предоперационном и послеоперационном периодах), анализ медицинской документации, обобщение и статистический анализ полученных данных, подготовку статей и докладов на конференциях и конгрессах.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и заключений по ним, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержит 14 таблиц, иллюстрирована 25 рисунками. Указатель литературы включает 164 источника, из них 24 отечественных и 140 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В исследование включили пациентов с БК, с подтвержденным после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии диагнозом. Все пациенты обследовались и лечились в эндокринологических и нейрохирургическом отделениях ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» в 2010-2018 годах. Диагноз после операции был верифицирован на основании ИГХИ операционного материала аденомы (экспрессия АКТГ клетками удаленного образования), либо клиничко-лабораторных данных (развитие ремиссии заболевания в течение как минимум 6 месяцев после операции).

**Критерии включения в исследование:** мужчины и женщины с БК, которым была показана и выполнена ТСА; подтверждение диагноза БК в послеоперационном периоде; возможность обследования через год после ТСА; подписанное информированное согласие.

**Критериями не включения являлись:** пациенты с БК, перенесшие двустороннюю адреналэктомию; эктопический АКТГ-зависимый синдром Кушинга; беременность; противопоказания к выполнению МРТ гипофиза с контрастированием; предшествующая лучевая терапия БК.

**В предоперационном периоде в качестве возможных предикторов ремиссии БК после ТСА оценили:**

- 1) клинические данные – пол и возраст пациентов, проявления и осложнения гиперкортицизма (избыточная масса тела и ожирение, перераспределение подкожно-жировой клетчатки (с увеличением жира на животе и лице, появлением «бычьего горба», уменьшением мышечной массы на бедрах), наличие типичных для гиперкортицизма стрий, плеторы, гирсутизма, артериальная гипертензия, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), ишемическая болезнь сердца (ИБС), нарушения углеводного обмена, остеопороз и низкотравматичные переломы, гипокалиемия, дислипидемия); длительность анамнеза проявлений гиперкортицизма; лечение, проводимое по поводу гиперкортицизма ранее (ТСА, односторонняя адреналэктомия, терапия блокаторами стероидогенеза); результаты компьютерной томографии (КТ) надпочечников с контрастированием при наличии (диффузное увеличение надпочечников, образования надпочечников);
- 2) лабораторные данные – кортизол сыворотки утром и вечером, АКТГ плазмы утром и вечером, свободный кортизол в суточной моче (СКСМ), свободный кортизол в слюне, собранной в 23-24.00, результаты малого дексаметазонового теста (МДТ) с 2 мг дексаметазона, результаты большого дексаметазонового теста с 8 мг дексаметазона (БДТ);
- 3) данные МРТ гипофиза с контрастированием (размер аденомы гипофиза, инвазия в кавернозный синус).

**В послеоперационном периоде на 2-3 сутки после ТСА оценили:**

- 1) клинические данные - наличие вторичной надпочечниковой недостаточности (ВНН) и потребность в заместительной терапии глюкокортикостероидами (ГКС);
- 2) лабораторные данные – кортизол сыворотки и АКТГ плазмы утром и вечером, СКСМ, свободный кортизол в слюне, собранной в 23-24.00.

**В качестве послеоперационных прогностических критериев на 12-14 сутки после операции проанализировали:**

- 1) клинические данные – наличие ВНН, потребность в терапии ГКС;
- 2) лабораторные данные (в случае получения терапии ГКС исследование проводилось на фоне ее 24-часовой отмены) – кортизол сыворотки и АКТГ плазмы утром и вечером, СКСМ, свободный кортизол в слюне, собранной в 23-24.00; МДТ с 1 мг дексаметазона у пациентов с нормальными уровнями СКСМ и кортизола сыворотки вечером.

**Результаты ИГХИ операционного материала** – подтверждение экспрессии АКТГ клетками удаленного образования, индекс пролиферации Ki-67.



Все пациенты были обследованы через год после ТСА. На основании полученных данных пациентов разделили на 2 группы:

**1 группа** — пациенты с ремиссией БК;

**2 группа** — пациенты с отсутствием ремиссии БК после ТСА.

**Критериями ремиссии** считали сочетание следующих биохимических признаков: нормальный уровень СКСМ, восстановление циркадности секреции кортизола (нормальный уровень кортизола сыворотки и/или слюны в 23-24.00), адекватное подавление кортизола сыворотки менее 50 нмоль/л в пробе с 1 мг дексаметазона, или развитие ВНН (клинико-лабораторные признаки), потребность в терапии ГКС.

Результаты предоперационного и раннего послеоперационного обследования сравнили в 1 и 2 группах пациентов.

### **Лабораторные исследования**

Кортизол в сыворотке крови определяли методом электрохемилюминисцентного анализа (ЭХЛА) (Roshe Diagnostic, Германия к аппарату Cobas E11, Швейцария). Референсные значения: утро (8-9.00) – 101,2 – 535,7 нмоль/л, вечер (23-24.00) – 64-327 нмоль/л. Исследование свободного кортизола в суточной моче проводилось методом ЭХЛА (Roshe Diagnostic, Германия к аппарату Cobas E11, Швейцария), референсные значения – 11,8 – 485,6 нмоль/сутки. Свободный кортизол в слюне измеряли на автоматическом анализаторе Cobas E411 фирмы F. Hoffmann-La Roche Ltd, методом ЭХЛА. Референсным значением считали уровень менее 6,85 нмоль/л (Белая Ж.Е. и др., 2012). Исследование уровня АКТГ в плазме выполняли методом ЭХЛА (Roshe Diagnostic, Германия к аппарату Cobas E11, Швейцария), референсные значения – 7,2-63,3 пг/мл.

### **Методика забора биологического материала и проведения диагностических проб**

Для оценки показателей (АКТГ плазмы, кортизол сыворотки) в утренние часы заборы крови из периферической вены проводили натощак в 8-9.00. Образцы крови направляли в лабораторию. Для оценки показателей в вечерние часы (кортизол сыворотки, АКТГ плазмы) забор крови вечером осуществляли в 23-24.00, пациент был в состоянии бодрствования. Пробирку с АКТГ центрифугировали, плазму замораживали. Образцы крови, собранной для определения кортизола в сыворотке, помещали в холодильник. На следующий день утром образцы крови направляли в лабораторию для исследования.

Забор слюны самостоятельно осуществлялся пациентом в 23-24.00 с использованием контейнера для сбора слюны Salivette. Предварительно пациенты были ознакомлены с правилами сбора слюны: в течение суток до исследования не употреблять спиртные напитки, в течение часа до исследования не есть, не пить и не курить, не чистить вечером зубы, за час до исследования прополоскать рот чистой водой, пробирку после сбора слюны поместить в холодильник, не замораживать. Образцы слюны на следующее утро направляли для проведения ЭХЛА в лабораторию.

Сбор суточной мочи для определения свободного кортизола начинали утром после пробуждения пациента. Пациент опорожнял мочевой пузырь, фиксировал время мочеиспускания, затем все порции, начиная со второй, собирал в специальную емкость для сбора мочи объемом 2 литра; сбор суточной мочи заканчивали на следующий день через 24 часа после начала – пациент собирал последнюю порцию мочи в это время в емкость. Фиксировали объем мочи с точностью до 50 мл, затем мочу тщательно перемешивали и отливали около 50 мл в контейнер для транспортировки в лабораторию с указанием суточного объема мочи.

МДТ с 2 мг дексаметазона проводили по протоколу: тест начинали в 8.00, пациент получал перорально по 0,5 мг дексаметазона каждые 6 часов в течение 2 дней, на 3 день утром в 8.00 выполняли забор крови для определения уровня кортизола сыворотки.

МДТ с 1 мг дексаметазона проводили по следующему протоколу: в 24.00 пациент принимал 2 таблетки дексаметазона по 0,5 мг, на следующее утро в 8.00 выполняли забор крови для определения уровня кортизола сыворотки.

Пробу с 8 мг дексаметазона (БДТ) проводили по протоколу: исходно определяли уровень кортизола сыворотки в 8-9.00, а также СКСМ, далее пациент получал перорально по 2 мг дексаметазона каждые 6 часов в течение 2 дней (тест начинали в 8.00), на 2 день пациент собирал суточную мочу, на 3 день утром в 8.00 выполняли забор крови для определения кортизола в сыворотке.

### **Магнитно-резонансная томография гипофиза с контрастированием**

Всем пациентам перед операцией выполняли МРТ гипофиза с введением контрастного вещества с гадолинием на аппарате Magnetom Trio A Tim 3.0 Тесла (SIEMENS, Германия).

Размером аденомы считали наибольший ее диаметр. Под микроаденомой гипофиза понимали образование размерами менее 10 мм, под макроаденомой – 10 мм и более (Hardy J., 1969). Инвазивный рост оценивали по классификации степени инвазии аденом гипофиза в полость кавернозного синуса согласно Knosp Scale: за отсутствие инвазивного роста принимали степени 0-2, степени 3-4 считали инвазивным ростом (Knosp E., 1993). Оценка результатов МРТ проводилась специалистом МРТ, а также оперирующим нейрохирургом.

### **Иммуногистохимическое исследование операционного материала**

ИГХИ операционного материала проводили с использованием моноклональных мышинных антител к человеческому АКТГ (clone AN26, Нидерланды). Определение индекса пролиферации Ki-67 проводили с использованием моноклональных мышинных антител clone MIB-1 (ДАКО, Дания).

### **Статистическая обработка**

Статистическую обработку данных проводили с помощью электронных таблиц общего назначения Excel-2016, входящих в пакет Microsoft Office-2016 и с использованием пакета Statistica 10. Распределения количественных признаков представлены с использованием медиан (Me) и интерквартильных интервалов [Q1; Q3], при условии нормального распределения - в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение (СО). Для сравнения независимых количественных показателей использовали критерий Манна-Уитни. Для сравнения качественных пропорций использовали точный критерий Фишера и хи-квадрат с поправкой на Йейтиса. Поиск точки разделения и расчёт чувствительности и специфичности прогностических критериев проводили на основании построения кривой операционных характеристик (ROC-анализ) с помощью программы MEDCALC. В качестве оптимальной точки разделения использовали такой уровень показателя, которому соответствовала максимальная сумма чувствительности и специфичности метода, полученные в ходе ROC-анализа. Площади под кривыми операционных характеристик (AUC) были измерены для демонстрации возможностей диагностических тестов верно оценивать истинно положительные и истинно отрицательные результаты. В работе использовали графические методы представления информации. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования**

В исследование включили 101 пациента с подтвержденным после ТСА диагнозом БК. У 79 больных (78,2%) оперативное вмешательство было первичным, у 22 (21,8%) - повторным, выполненным в связи с отсутствием ремиссии заболевания. 6 пациентам (5,9%) до операции на гипофизе была выполнена односторонняя адреналэктомия в других медицинских учреждениях.

Среди включенных в исследование было 12 мужчин и 89 женщин в возрасте от 15 до 72 лет (средний возраст -  $41,2 \pm 13$  лет).

У 82 пациентов диагноз БК был подтвержден данными ИГХИ (наличием экспрессии АКТГ клетками удаленной опухоли). У остальных 19 пациентов он был установлен на основании развития после операции стойкой ремиссии заболевания, которая сохранялась в течение последующих 6 и более месяцев. Из них, 10 больным ИГХИ не выполнили в связи с отсутствием достаточного для исследования количества материала. У остальных 9 пациентов, оперированных до 2012 года, возможность данного исследования отсутствовала.

Через год после операции пациенты были разделены на 2 группы согласно дизайну исследования:

1 группа - включила 63 пациента с ремиссией БК после ТСА,

2 группа - включила 38 пациентов с отсутствием ремиссии БК через год после ТСА.

Результаты предоперационного и раннего послеоперационного обследования сопоставили в двух группах пациентов.

### Предоперационные предикторы ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии

Как следует из Таблицы 1, больные анализируемых групп существенно не различались по возрасту, полу, длительности гиперкортицизма и проводимой по поводу него ранее терапии, а также характеру выявленных КТ-изменений надпочечников (во всех случаях  $p > 0,05$ ).

Таблица 1 – Характеристика пациентов сопоставляемых групп

Показатель	1 группа (n=63)	2 группа (n=38)	p-критерий
Возраст, годы Среднее $\pm$ СО (min-max)	42,19 $\pm$ 12,09 (21-68)	39,61 $\pm$ 14,43 (15-72)	0,336
Пол, мужчины/женщины, n	5/58	7/31	0,208 ( $\chi^2=1,588$ )
Длительность анамнеза гиперкортицизма, годы Me [25%;75%] (min-max)	4 [3; 6] (1-15)	5 [3;6] (1-10)	0,72
Терапия блокаторами стероидогенеза, n (%)	10 (15,9%)	5 (13,2%)	0,934 ( $\chi^2=0,007$ )
ТСА, n (%)	13 (20,6%)	9 (23,7%)	0,912 ( $\chi^2=0,012$ )
Односторонняя адреналэктомия, n (%)	3 (4,8%)	3 (7,9%)	0,834 ( $\chi^2=0,044$ )
Результаты КТ надпочечников с контрастированием: Диффузное увеличение, n (%) Образования, n (%)	4/50 (8%) 12/50 (24%)	5/32 (15,6%) 5/32 (15,6%)	0,475 ( $\chi^2=0,512$ ) 0,527 ( $\chi^2=0,401$ )

У больных 2 группы существенно чаще имели место такие проявления или осложнения гиперкортицизма, как наличие типичных стрий и гипокалиемия. Из 11 пациентов с гипокалиемией ремиссия БК после ТСА была отмечена в 3 случаях (27,3%), тогда как из 90 пациентов с нормокалиемией – в 60 (66,7%). Отсутствие гипокалиемии позволяло прогнозировать ремиссию БК с чувствительностью и специфичностью 95,2% и 21,1% соответственно, диагностической точностью - 67,3% ( $p=0,027$ ). Ремиссию БК диагностировали у 17 из 20 (85%) пациентов с отсутствием типичных стрий и у 46 из 81 (56,8%) пациента со стриями ( $p=0,03$ ). Таким образом, отсутствие стрий являлось предиктором ремиссии БК с 27% чувствительностью, 91,2% специфичностью, с диагностической точностью 51,2% ( $p=0,039$ ) (Таблица 2).

Таблица 2 - Проявления и осложнения гиперкортицизма в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Проявления гиперкортицизма	1 группа, n (%)	2 группа, n (%)	P ( $\chi^2$ )
Избыточная масса тела, n (%)	13 (20,6%)	8 (21,2%)	0,840 (0,041)
Ожирение, n (%)	25 (39,7%)	16 (42,1%)	0,976 (0,001)
<b>Типичные для гиперкортицизма стрии, n (%)</b>	<b>46 (73%)</b>	<b>35 (92%)</b>	<b>0,039 (4,303)</b>
Гирсутизм (гирсутное число более 8), n (%)	13/58 (22,4%)	8/31 (25,8%)	0,923 (0,009)
Артериальная гипертензия, n (%)	51 (80,9%)	36 (94,74%)	0,1 (2,706)
ОНМК в анамнезе, n (%)	3 (4,8%)	2 (5,3%)	0,719 (0,13)
ИБС, n (%)	6 (9,5%)	4 (10,5%)	0,857 (0,033)
Нарушения углеводного обмена, n (%)	40 (63,5%)	26 (68,4%)	0,773 (0,083)
Нарушение толерантности к глюкозе, n (%)	14 (22,2%)	10 (26,3%)	0,821 (0,052)
Сахарный диабет, n (%)	26 (41,3%)	16 (42,1%)	0,9 (0,016)
Остеопороз, n (%)	18 (28,6%)	13 (34,2%)	0,71 (0,139)
Низкотравматичные переломы, n (%)	7 (11,1%)	5 (13,2%)	0,993(0,001)
Дислипидемия, n (%)	34 (54%)	18 (47,4%)	0,662 (0,191)
<b>Гипокалиемия, n (%)</b>	<b>3 (4,8%)</b>	<b>8 (21,05%)</b>	<b>0,027 (4,912)</b>

### Прогностическая значимость предоперационного лабораторного обследования

Как следует из материалов, суммированных в Таблице 3, больные сопоставляемых групп существенно не различались по результатам выполненного перед операцией лабораторного обследования: уровням кортизола сыворотки (утром и вечером), АКТГ плазмы (утром и вечером), свободного кортизола в слюне, собранной в 23-24.00, СКСМ, результатам МДТ с 2 мг дексаметазона.

Таблица 3 – Результаты предоперационного лабораторного обследования в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Показатель	1 группа	2 группа	p
	Me [25%;75%] (min-max)	Me [25%;75%] (min-max)	
Кортизол сыворотки в 8-9.00, нмоль/л	693,2 [533,5; 822,1] (224,4-2000) (n=60)	705,5 [574,3; 914,9] (361-1750) (n=38)	0,459
Кортизол сыворотки в 23-24.00, нмоль/л	496,6 [381,7; 750,2] (274,5-1453) (n=63)	605 [436; 754] (316-1006) (n=38)	0,156
СКСМ, нмоль/сут	588,96 [419,1; 921,1] (66-6406) (n=63)	762,4 [432; 2096,5] (156,6-8740) (n=38)	0,325
АКТГ плазмы в 8-9.00, пг/мл	75,7 [46,2; 91,4] (12,5-241,9) (n=63)	56,99 [47,1; 78] (19,64-213) (n=38)	0,201
АКТГ плазмы в 23-24.00, пг/мл	51,7 [33,4; 75] (8,73-112,5) (n=35)	44,6 [35,2; 66,8] (10-143,6) (n=28)	0,201
Кортизол в слюне в 23-24.00, нмоль/л	14,5 [8,6; 22,3] (5,42-42,11) (n=19)	11,76 [8,75; 16,5] (3,8-44,3) (n=13)	0,443
МДТ с 2 мг дексаметазона, кортизол сыворотки, нмоль/л	306,9 [163,5; 537,2] (13,24-883) (n=63)	477 [368,8; 584,2] (63,97-770,3) (n=38)	0,085

Существенные различия в лабораторных предоперационных показателях оказались только для результатов БДТ (Таблица 4), что позволяет рассматривать их с позиции прогностической перспективности в отношении ремиссии БК после ТСА.

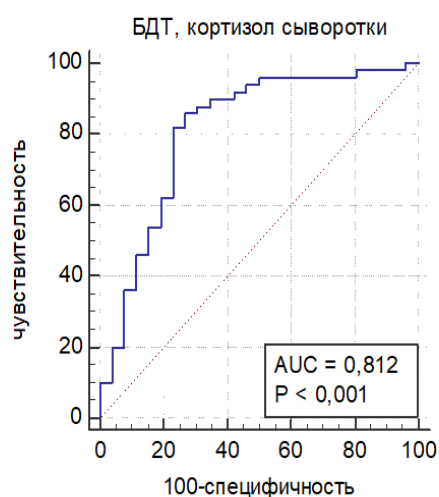
Таблица 4 – Результаты большого дексаметазонового теста в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Показатель	1 группа	2 группа	p
	Me [25%;75%] (min-max) (n=53)	Me [25%;75%] (min-max) (n=25)	
БДТ, кортизол сыворотки, нмоль/л	73,4 [49,32; 123,15] (22,01-1371) (n=53)	397,85 [211,95; 581,1] (3-1137,96) (n=25)	<0,001
БДТ, степень подавления уровня кортизола сыворотки, %	87,8 [81,8; 90,7] (21,6-96,7) (n=53)	55,4 [27,1; 69,7] («-67»* - 95,6) (n=25)	<0,001

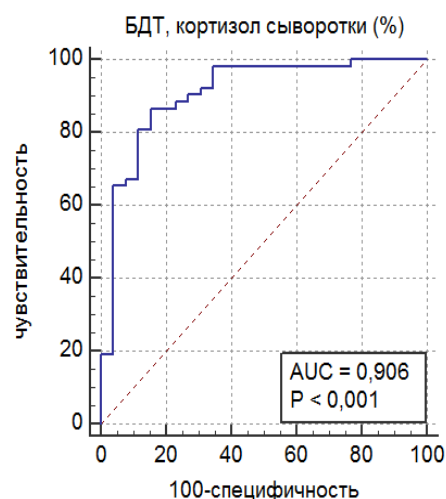
Примечания:

\* - у пациента в большом дексаметазоновом тесте произошло повышение уровня кортизола сыворотки по сравнению с фоновым.

Оптимальный пороговый уровень кортизола сыворотки в БДТ в прогнозировании ремиссии БК по данным ROC-анализа составил  $\leq 225,15$  нмоль/л с чувствительностью и специфичностью 86,8% и 76% соответственно, прогностической ценностью положительного результата 88,5%, диагностической точностью 83,3%, стандартной ошибкой 0,0574 ( $p < 0,001$ ): из 52 пациентов с кортизолом сыворотки  $\leq 225,15$  нмоль/л у 46 была ремиссия, у 6 – сохранение гиперкортицизма, из 26 пациентов с уровнем кортизола сыворотки в пробе более 225,15 нмоль/л у 7 была ремиссия БК, у 19 – ее отсутствие (Рисунок 1а).



а



б

Рисунок 1 – ROC-кривые для результатов предоперационного большого дексаметазонового теста: а – уровень кортизола сыворотки, б – степень подавления кортизола сыворотки

Оптимальный пороговый уровень степени подавления кортизола сыворотки в БДТ в прогнозировании ремиссии БК составил  $\geq 74\%$  с чувствительностью и специфичностью 86,8% и 84% соответственно, с прогностической ценностью положительного результата 92%, диагностической точностью 85,8%, стандартной ошибкой 0,0388 ( $p < 0,001$ ) (Рисунок 1б). Спустя год после операции, из 50 пациентов с супрессией кортизола сыворотки в БДТ  $\geq 74\%$  ремиссия

БК имела место у 46, гиперкортицизм – у 4, тогда как из 28 пациентов с отсутствием подавления кортизола сыворотки ремиссию констатировали у 7 пациентов.

### Прогностическая значимость данных предоперационной магнитно-резонансной томографии гипофиза с контрастированием

Результаты МРТ гипофиза оценили у 99 пациентов (у двух пациентов отсутствовали данные МРТ, в истории болезни были указания на наличие аденомы гипофиза без уточнения ее размеров и характера роста).

Размер аденомы гипофиза у больных сопоставляемых групп значимо не отличался ( $p=0,31$ ). Не было установлено существенного различия между частотой развития ремиссии БК после ТСА у больных с микро- и макроаденомами гипофиза ( $\chi^2=0,051$ ,  $p=0,822$ ). Отсутствие визуализации аденомы гипофиза по результатам МРТ также не отражалось на прогнозе ( $\chi^2=0,3$ ,  $p=0,584$ ) (Таблица 5).

Инвазивный рост аденомы гипофиза был выявлен у 24 пациентов, из них через год после ТСА ремиссию БК диагностировали у 3 (12,5%), сохранение гиперкортицизма – у 21 пациента (87,5%). Из 75 пациентов без инвазивного роста образования гипофиза ремиссию БК выявили у 58 (77,3%), гиперкортицизм – у 17 пациентов (22,7%). Таким образом, наличие инвазии аденомы в кавернозный синус с 55,3% чувствительностью и 95% специфичностью может рассматриваться в качестве предиктора неблагоприятного исхода – отсутствия ремиссии БК после ТСА ( $\chi^2=29,6$ ,  $p<0,001$ ).

Таблица 5 – Характеристики аденомы гипофиза по результатам предоперационной МРТ в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Признаки	1 группа (n=61)	2 группа (n=38)	p
Микроаденома/макроаденома, n	48/11	27/8	0,822 ( $\chi^2=0,051$ )
Отсутствие визуализации аденомы, n	2	3	0,584 ( $\chi^2=0,3$ )
Инвазия в кавернозные синусы, n	3	21	<0,001 ( $\chi^2=29,6$ )
Размер аденомы гипофиза, мм Me [25%;75%] (min-max)	6 [4;8] (2,2-22)	5,5 [3;8,5] (2-32)	0,31

При анализе данных МРТ больных с отсутствием инвазивного роста аденомы ( $n=75$ ) было установлено, что оптимальная «отрезная точка» размера аденомы гипофиза по результатам ROC-анализа в прогнозировании ремиссии БК после ТСА составила  $\geq 3$  мм, с чувствительностью 82,76%, специфичностью 81,25%, прогностической ценностью положительного результата 94%, диагностической точностью 81,3% и стандартной ошибкой 0,477 ( $p<0,001$ ) (Рисунок 2).

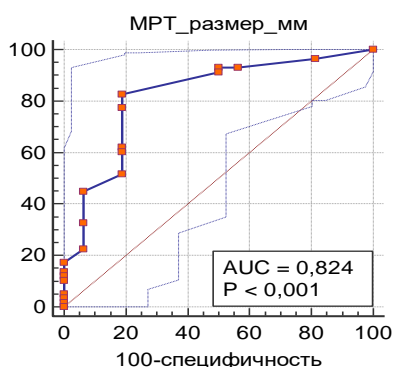


Рисунок 2 – Результаты ROC-анализа при поиске оптимального порога отсечения размеров аденомы гипофиза при отсутствии ее инвазивного роста в прогнозировании ремиссии болезни Кушинга после транссфеноидальной эндоскопической аденомэктомии

Из 50 пациентов с размерами аденомы гипофиза 3 мм и более через год после ТСА ремиссия БК имела место у 47 (94%). Необходимо отметить, что ремиссия БК была у всех 10 пациентов с неинвазивными макроаденомами (при максимальном размере аденомы у них 22 мм). Из 25 пациентов с размером образования менее 3 мм ремиссию БК диагностировали у 11 (44%), включая 2-х из 5 пациентов с отсутствием визуализации аденомы гипофиза (Рисунок 3).

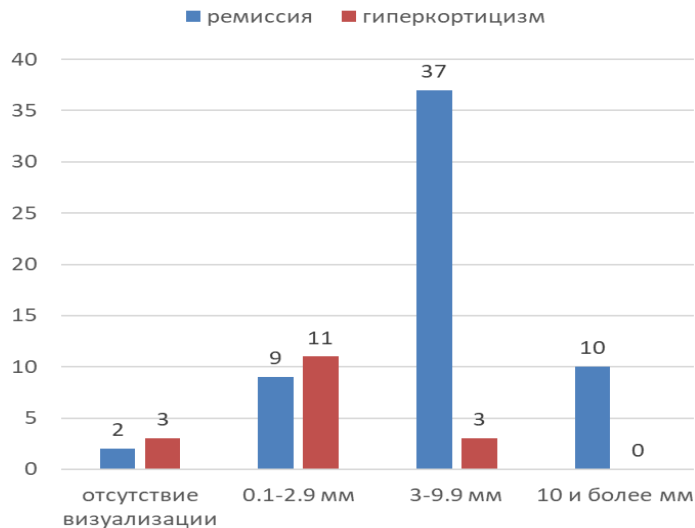


Рисунок 3 - Исходы трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии (число больных с ремиссией болезни Кушинга и ее отсутствием) через год после операции у пациентов с неинвазивным ростом аденомы гипофиза в зависимости от ее размера

### Послеоперационные предикторы ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии

#### Вторичная надпочечниковая недостаточность

На 2-3 сутки после операции клинично-лабораторные данные о развитии ВНН были получены у 58 пациентов. Из них ремиссия БК через год после ТСА была подтверждена у 54 пациентов (93,1%), соответственно, чувствительность и специфичность показателя в прогнозировании ремиссии заболевания после операции составили 85,7% и 89,5%. Из 56 пациентов с ВНН, выявленной на 12-14 сутки после операции, ремиссию БК через год после ТСА диагностировали у 54 (96,4%). Чувствительность и специфичность данного теста в прогнозировании ремиссии БК составили 85,7% и 94,7%, соответственно. Таким образом, наличие ВНН в раннем послеоперационном периоде является важным предиктором ремиссии БК после ТСА ( $p < 0,001$ ).

#### Прогностическая значимость результатов лабораторного обследования на 2-3 сутки после операции

При сравнении результатов лабораторного обследования больных на 2-3 сутки после ТСА выявлены различия показателей кортизола сыворотки (утром и вечером), СКСМ, АКТГ плазмы (утром и вечером) в сопоставляемых группах (Таблица 6).

Таблица 6 – Результаты лабораторного обследования на 2-3 сутки после операции в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Показатель	1 группа Me [25%;75%] (min-max) (n)	2 группа Me [25%;75%] (min-max) (n)	p
Кортизол сыворотки в 8-9.00, нмоль/л	44,1 [23,35; 98,85] (2,5-1397) (n=39)	466,3 [399,2; 619,5] (51,29-1649) (n=29)	<0,001
Кортизол сыворотки в 23-24.00, нмоль/л	41,19 [21,8; 89] (8,8-696,2) (n=21)	460,2 [329,2; 567,35] (52,65-1649) (n=23)	<0,001
СКСМ, нмоль/сут	23,33 [0,005; 160,9] (0-714) (n=22)	445,7 [214; 1078,95] (54,7-3562) (n=20)	<0,001
АКТГ плазмы в 8-9.00, пг/мл	6,8 [3,01; 11,49] (1-83,5) (n=30)	53,69 [46,95; 65] (5,48-105,7) (n=24)	<0,001
АКТГ плазмы в 23-24.00, пг/мл	4,95 [3,1; 6,4] (1-52,4) (n=22)	48,11 [33,75; 58,07] (1,27-130) (n=24)	<0,001
Кортизол в слюне в 23-24.00, нмоль/л	8,66 [4,02; 18,05] (1,2-102) (n=12)	18,35 [9,6; 22,8] (0-402) (n=13)	0,097

С использованием ROC-анализа для всех вышеуказанных тестов были определены пороговые значения для прогнозирования ремиссии через год после ТСА (Рисунок 4), рассчитаны их специфичность и чувствительность (Таблица 7).

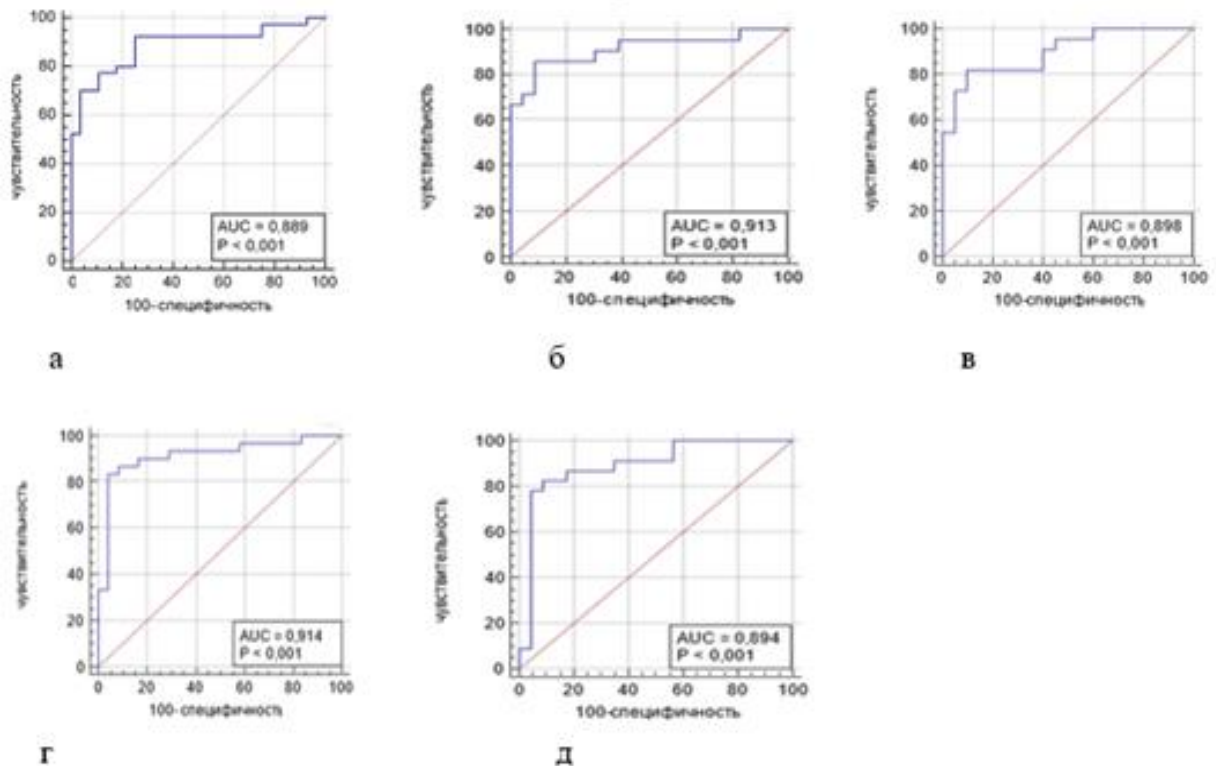


Рисунок 4 – ROC-кривые для лабораторных показателей на 2-3 сутки после операции: а – кортизол сыворотки утром, б – кортизол сыворотки вечером, в – СКСМ, г - АКТГ плазмы утром, д – АКТГ плазмы вечером



Таблица 7 - Сопоставление пороговых значений показателей секреции АКТГ и кортизола для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга в зависимости от срока послеоперационного обследования

Показатель	2-3 сутки после ТСА			12-14 сутки после ТСА		
	пороговое значение	чувствительность, %	специфичность, %	пороговое значение	чувствительность, %	специфичность, %
Кортизол сыворотки в 8-9.00, нмоль/л	388	94,9	75,9	417,7	96,4	87
Кортизол сыворотки в 23-24.00, нмоль/л	133,9	85,7	91,3	195,5	95,5	90,5
АКТГ плазмы в 8-9.00, пг/мл	20	83,3	95,8	41,71	94,4	88,9
АКТГ плазмы в 23-24.00, пг/мл	7	77,3	96	22,2	87,5	91
СКСМ, нмоль/сутки	187,6	82	90	118	94,4	94,1
Кортизол в слюне в 23-24.00, нмоль/л	-	-	-	8,16	90,1	87,5

По уровню свободного кортизола в слюне, собранной в 23-24.00 на 2-3 сутки после операции, существенных различий в 1 и 2 группах пациентов выявлено не было ( $p=0,097$ ) (Таблица 6). Обращало на себя внимание наличие высоких значений показателя у 4 больных: в 1 группе до 102 нмоль/л у пациента с клиническими и лабораторными признаками ВНН, во 2 группе – до 402 нмоль/л. Вероятнее всего, это было связано с контаминацией слюны кровью в связи с особенностями операционного доступа. В 11 случаях определение кортизола слюны было невозможно в связи с крайне малым количеством материала, что мы объяснили свойственной больным в раннем послеоперационном периоде сухостью во рту в связи с затруднением носового дыхания, либо с развитием несахарного диабета.

### Прогностическая значимость лабораторных показателей на 12-14 сутки после операции

При сравнении данных лабораторного обследования больных 1 и 2 групп на 12-14 сутки после операции установлена значимая разница в показателях кортизола сыворотки (утром и вечером), АКТГ плазмы (утром и вечером), СКСМ, а также свободного кортизола в слюне, собранной в 23-24.00 (Таблица 7, Таблица 8, Рисунок 5).

Таблица 8 – Результаты лабораторного обследования на 12-14 сутки после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии в сопоставляемых группах пациентов с болезнью Кушинга

Показатель	1 группа Me [25%;75%] (min-max)	2 группа Me [25%;75%] (min-max)	p
Кортизол сыворотки в 8-9.00, нмоль/л	37,98 [23,8; 112,6] (4,26-886,2) (n=28)	570,3 [467,25; 696,55] (158-1667) (n=23)	<0,001
Кортизол сыворотки в 23-24.00, нмоль/л	26,37 [8,02; 80,74] (1-386,2-1104) (n=22)	450,6 [388,1; 636] (104,7-1624) (n=21)	<0,001

Продолжение Таблицы 8

Показатель	1 группа Me [25%;75%] (min-max)	2 группа Me [25%;75%] (min-max)	p
СКСМ, нмоль/сут	1,63 [0; 36] (0-356,4) (n=18)	400,37 [218,37; 654,59] (29,64-1814,89) (n=17)	<0,001
АКТГ плазмы в 8-9.00, пг/мл	9,52 [5,18; 21,3] (1-62,59) (n=18)	56,95 [46,18; 67,28] (10,54-100,8) (n=18)	<0,001
АКТГ плазмы в 23-24.00, пг/мл	6,55 [1,78; 9,85] (1-40,86) (n=16)	46,43 [38,03; 56,84] (10,02-67,01) (n=11)	<0,001
Кортизол в слюне в 23-24.00, нмоль/л	2,88 [2,18; 7,48] (0,5-9,8) (n=10)	12,3 [8,62; 22,7] (3,6-25,84) (n=8)	<0,001
МДТ, кортизол сыворотки, нмоль/л	36; 52,76 (n=2)	185 [58,39; 551,2] (30,66-1006) (n=7)	0,4

В связи с недостаточным количеством данных, анализ результатов пробы с 1 мг дексаметазона (МДТ) в отношении ассоциации с прогнозом ремиссии БК не проводился (Таблица 8).

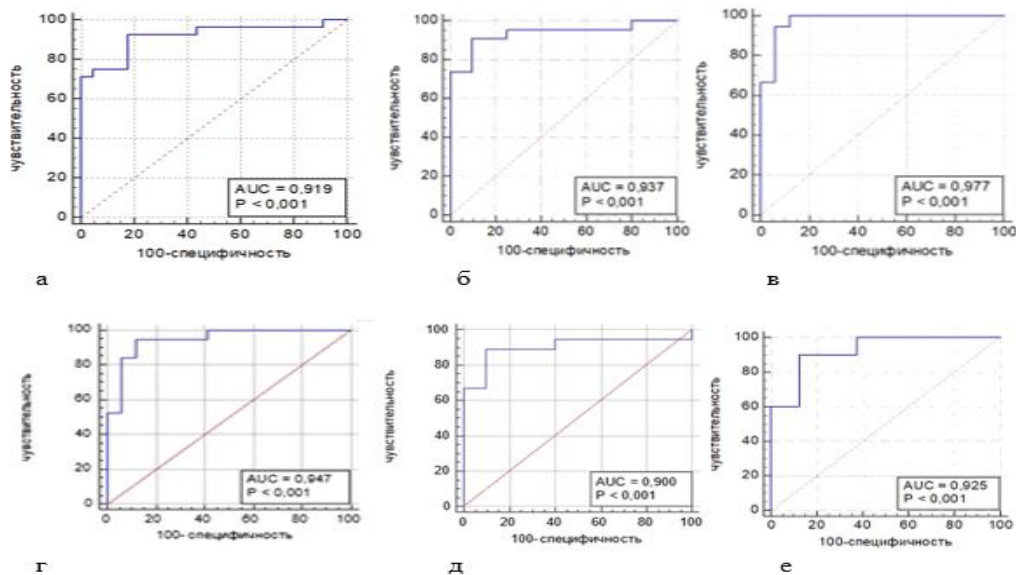


Рисунок 5 – ROC-кривые для лабораторных показателей, оцениваемых на 12-14 сутки после операции: а – кортизол сыворотки утром, б – кортизол сыворотки вечером, в – СКСМ, г – АКТГ плазмы утром, д – АКТГ плазмы вечером, е – кортизол в слюне, собранной в 23-24.00

### Прогностическое значение иммуногистохимического исследования операционного материала

Согласно полученным данным, результаты ИГХИ (включающего подтверждение экспрессии АКТГ клетками удаленного образования гипофиза, определение значения индекса пролиферации Ki-67) были сходны у больных сопоставляемых групп и оказались неинформативны в отношении прогнозирования вероятности ремиссии БК после ТСА (Таблица 9).

Таблица 9 – Результаты иммуногистохимического исследования операционного материала в сопоставляемых группах пациентов

Признак	1 группа	2 группа	p
АКТГ+*/ АКТГ-**, n	45/9	37/1	0,074 ( $\chi^2=3,202$ )
Ki-67, % Me [25%;75%] (min-max)	1,15 [0,4; 3,13] (0-9,11) (n=44)	1,67 [0,6; 4,145] (0-19,8) (n=19)	0,496

Примечания:

\* - наличие экспрессии АКТГ клетками удаленного образования;

\*\* - отсутствие экспрессии АКТГ клетками удаленного образования.

### **Обоснование выбора объема и сроков раннего послеоперационного обследования для прогнозирования ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии**

Параметры секреции АКТГ и кортизола, оцениваемые в раннем послеоперационном периоде, а именно: наличие ВНН, а также снижение уровней кортизола сыворотки и АКТГ плазмы (утром и вечером), снижение уровня СКСМ менее установленных пороговых значений, могут рассматриваться в качестве предикторов ремиссии БК через год после ТСА. Обращают внимание в равной степени высокие уровни специфичности и чувствительности изучаемых показателей при их определении на 2-3 и 12-14 сутки (Таблица 7).

При обсуждении преимуществ и недостатков использования данных послеоперационных лабораторных тестов следует принимать во внимание ограничения, определяемые особенностями клинического состояния больных (развитие ВНН и необходимость в своевременном начале заместительной терапии глюкокортикоидами, развитие полиурии вследствие несахарного диабета, трудности получения материала (слюны) для исследования).

С позиций оптимизации лечебно-диагностического процесса в качестве наиболее информативного послеоперационного прогностического критерия может рассматриваться кортизол сыворотки (утром) на 2-3 сутки после ТСА (либо наличие клиники ВНН при невозможности оценки уровня кортизола на фоне заместительной терапии ГКС). В пользу выбора данного теста свидетельствуют его высокие специфичность и чувствительность (сопоставимые при оценке на 2-3 и 12-14 сутки), удобство забора для пациента и медицинского персонала, возможность прогнозирования дальнейшего течения заболевания уже на 2-3 сутки после операции и сокращение затрат за счет уменьшения сроков пребывания пациента в стационаре.

### **Перспективность комплексного обследования пациентов с болезнью Кушинга для прогнозирования ее ремиссии после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии**

В нашей работе мы, получив несколько перспективных в прогнозировании ремиссии БК предоперационных и послеоперационных предикторов, выбрали наиболее оптимальные из них и проанализировали возможности их комплексного использования. Из всего спектра полученных предикторов были выбраны те, которые отражали характеристики аденомы, а именно её биологические особенности и техническую возможность радикального удаления, а также позволяли оценить реализацию тотального удаления аденомы в ходе операции.

Таким образом, было выбрано сочетание трех предикторов: данные предоперационной МРТ гипофиза с контрастированием (отражают возможность радикального удаления аденомы), результаты БДТ (показывают биологическое поведение кортикотропиномы) и уровень кортизола сыворотки утром на 2-3 сутки либо клиническая картина ВНН при невозможности оценки кортизола сыворотки в связи с инициацией терапии ГКС (свидетельствуют о радикальности выполненной ТСА).

Все три параметра одновременно регистрировали у 78 пациентов. Было получено, что при сочетании всех трех благоприятных предикторов ремиссия БК через год после операции была в 100% случаев, тогда как при отсутствии всех предикторов в 100% случаев выявили гиперкортицизм. При наличии 1 или 2 предикторов прогноз был сомнительный (Таблица 10).

Таблица 10 – Прогностическая информативность различных сочетаний предоперационных и послеоперационных предикторов ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии

Сочетание предикторов*, n**	Частота ремиссии (%)
3 из 3-х предикторов (38/0)	100%
2 из 3-х предикторов (12/4)	75%
1 из 3-х предикторов (1/11)	9,1%
Ни одного предиктора (0/12)	0%

Примечания:

\* - оцениваемые предикторы ремиссии БК через год после ТСА:

- отсутствие инвазии аденомы и ее размер  $\geq 3$  мм по данным МРТ гипофиза;

- подавление кортизола сыворотки в предоперационном БДТ  $\geq 74\%$ ;

- уровень кортизола сыворотки утром на 2-3 сутки после операции  $\leq 388$  нмоль/л или наличие ВНН.

\*\* - число пациентов в сопоставляемых группах (в числителе – 1 группа, в знаменателе – 2 группа).

С учетом полученных данных нами был разработан алгоритм ведения пациентов с БК после ТСА в зависимости от прогноза послеоперационного течения заболевания (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Алгоритм ведения пациентов с болезнью Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии в зависимости от прогноза

Примечания к Рисунку:

\*- оцениваемые предикторы ремиссии БК через год после ТСА: отсутствие инвазии аденомы и ее размер  $\geq 3$  мм по данным МРТ гипофиза; подавление кортизола сыворотки в БДТ  $\geq 74\%$ ; уровень кортизола сыворотки утром на 2-3 сутки после операции  $\leq 388$  нмоль/л или наличие ВНН.

### Выводы

1. Степень супрессии кортизола сыворотки  $\geq 74\%$  в большом дексаметазоновом тесте, проведенном до выполнения трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии, была благоприятным прогностическим критерием ремиссии болезни Кушинга после операции.
2. Наличие инвазивного роста аденомы гипофиза по результатам магнитно-резонансной томографии (вне зависимости от размера) являлось прогностическим критерием отсутствия ремиссии болезни Кушинга, тогда как у пациентов с аденомами без инвазивного роста размер образования  $\geq 3$  мм мог быть использован в качестве благоприятного прогностического критерия ремиссии болезни Кушинга.
3. Кортизол сыворотки, адренкортикотропный гормон плазмы утром и в поздние вечерние часы, свободный кортизол в суточной моче на 2-3 и 12-14 сутки после операции обладали сопоставимыми специфичностью и чувствительностью в оценке прогноза ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии.
4. Сочетание пред- и послеоперационных показателей (размер аденомы гипофиза  $\geq 3$  мм при отсутствии ее инвазивного роста, подавление кортизола сыворотки  $\geq 74\%$  в большом дексаметазоновом тесте, кортизол сыворотки  $\leq 388$  нмоль/л либо развитие клиники вторичной надпочечниковой недостаточности на 2-3 сутки после операции) предсказывало ремиссию болезни Кушинга через год после операции в 100% случаев.

### Практические рекомендации

Прогнозирование ремиссии болезни Кушинга возможно уже в первые дни после операции с помощью комплексной оценки трех наиболее оптимальных предикторов: предоперационных (результаты магнитно-резонансной томографии гипофиза с контрастированием, большого дексаметазонового теста) и раннего послеоперационного (кортизол сыворотки утром на 2-3 сутки после операции либо наличие клиники вторичной надпочечниковой недостаточности).

В зависимости от полученных данных возможно разделение пациентов на группы с высокой и низкой вероятностью развития ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии для определения тактики их дальнейшего наблюдения и лечения:

- a. При наличии у пациента всех трех благоприятных прогностических критериев прогноз хороший, требуется назначение при необходимости заместительной терапии глюкокортикостероидами и ее дальнейшая коррекция, наблюдение пациента через 3 и 6 месяцев и далее 1 раз в 6 месяцев либо по показаниям.
- b. При наличии у пациента одного или двух предикторов прогноз сомнительный, показана выжидательная тактика: обследование через 1 и 3 месяца, и далее каждые 3 месяца, в случае возобновления/сохранения гиперкортицизма - определение тактики лечения.
- c. При отсутствии всех трех предикторов прогноз неблагоприятный, требуется незамедлительное назначение медикаментозной терапии и решение вопроса о дальнейшей тактике.

### Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гуссаова (Курицына), Н.В. Опыт применения катетеризации пещеристых и нижних каменных синусов в дифференциальной диагностике АКТГ-зависимого гиперкортицизма / Н.В. Гуссаова (Курицына), А.В. Савелло, У.А. Цой [и др.] // Трансляционная медицина. – 2015. – №2-3. – С.39-47.
2. Гуссаова (Курицына), Н.В. Предоперационные маркеры ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии / Н.В. Гуссаова (Курицына), У.А. Цой, В.Ю. Чербилло [и др.] // Клиническая Медицина. – 2017. - №12. – С. 1106-1111.

3. Курицына, Н.В. Прогностические критерии ремиссии гиперкортицизма после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии у пациентов с болезнью Кушинга / Н.В. Курицына, Ю.В. Лаврищева, В.Ю. Черebilло [и др.] // Медицинский Совет. – 2019. - №12. – С. 122-127.
4. Курицына, Н.В. Предикторы ремиссии болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии / Н.В. Курицына, Ю.В. Лаврищева, У.А. Цой [и др.] // Врач. – 2019. – Т. 30, №8. – С. 29–33.
5. Гуссаова (Курицына), Н.В. Возможности катетеризации пещеристых синусов в диагностике болезни Кушинга / Н.В. Гуссаова (Курицына), А.В. Савелло, У.А. Цой [и др.] // Тезисы XV Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения». – 2016. - С.130.
6. Gussaova (Kuritsyna), N. Preoperative markers of Cushing's disease remission after transsphenoidal endoscopic surgery / N. Gussaova (Kuritsyna), U. Tsoy, V. Cherebillo [et al.] // ECE2016 Abstract Book. - 2016. - Vol. 41 – P. 895.
7. Шевцова, А.Д. Нарушения углеводного обмена у пациентов с болезнью Кушинга / А.Д. Шевцова, Н.В. Гуссаова (Курицына), У.А. Цой // Трансляционная медицина. – 2017. – Приложение № 1, Тезисы XI ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов. – С. 155.
8. Гуссаова (Курицына), Н.В. Прогностические критерии ремиссии Болезни Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии / Н.В. Гуссаова (Курицына), У.А. Цой, В.Ю. Черebilло [и др.] // Тезисы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы эндокринологии». – 2017. – С. 4.
9. Gussaova (Kuritsyna), N. Preoperative HDDST in the prognosis of CD remission after transsphenoidal endoscopic surgery / N. Gussaova (Kuritsyna), U. Tsoy, V. Cherebillo [et al.] // ECE2017 Abstract Book. – 2017. - Vol. 49. – P. 989.
10. Gussaova (Kuritsyna), N. Combined cavernous and inferior petrosal sinus sampling in the differential diagnostic of ACTH-dependent Cushing's syndrome / N. Gussaova (Kuritsyna), U. Tsoy, A. Savello [et al.] // ECE2018 Abstract Book. - 2018. - Vol. 56. – P. 687.
11. Плотникова, Н.А. Одномоментная и последовательная комбинированная катетеризация нижних каменистых и пещеристых синусов в дифференциальной диагностике АКТГ-зависимого гиперкортицизма / Н.А. Плотникова, Н.В. Гуссаова (Курицына), У.А. Цой // Трансляционная медицина. – Приложение №3, Тезисы Всероссийской молодежной медицинской конференции с международным участием «Алмазовские чтения – 2018». – 2018. – С. 603.
12. Курицына, Н.В. Роль совместной катетеризации пещеристых и нижних каменистых синусов в дифференциальной диагностике АКТГ-зависимого синдрома Кушинга / Н.В. Курицына, У.А. Цой, А.В. Савелло [и др.] // Трансляционная медицина. - Приложение №1, Тезисы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы современной эндокринологии: фокус на регионы». – 2018. – С. 26.
13. Шулаева, А.А. Роль кортизола в слюне в качестве предиктора ремиссии болезни Иценко-Кушинга после трансфеноидальной эндоскопической аденомэктомии / А.А. Шулаева, Н.В. Курицына, У.А. Цой // Тезисы Алмазовского молодежного медицинского форума – 2019. – 2019. – Приложение 1. – С. 449.
14. Kuritsyna, N. Preoperative predictors of Cushing's disease remission after transsphenoidal endoscopic surgery / N. Kuritsyna, U. Tsoy, V. Cherebillo, A. Paltsev, E. Grineva // ECE2019 Abstract Book. – 2019. - Vol 63. - P. 387.
15. Tsoy, U.A. Brain 18F-fluorodeoxyglucose PET/CT in localization of MRI-negative ACTH-producing pituitary adenomas / U.A. Tsoy, D. V. Ryzhkova, V.J. Cherebillo, A.V. Ryzhkov, N.V. Kuritsyna [et al.] // ECE2019 Endocrine Abstracts. - 2019. - Vol 63. - P. 141.
16. Khatsimova, L.S. Nighttime serum cortisol level for diagnosis of hypercortisolism in hospitalized patients / L.S. Khatsimova, U.A. Tsoy, N.V. Kuritsyna [et al.] // 21st European Congress of Endocrinology 2019 18-21 May 2019, Lyon, France; Endocrine Abstracts. - 2019. - Vol 63. - P.510.

17. Тимкина, Н.В. Определение свободного кортизола в слюне, собранной в вечернее время, для скрининга гиперкортицизма / Н.В. Тимкина, У.А. Цой, **Н.В. Курицына** [и др.] // Сборник тезисов VIII (XXVI) Национального Конгресса эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» 22-25 мая 2019. – Москва, 2019. - ООО «УП ПРИНТ». – С. 716.

18. Пат. 2699218 Российская Федерация, 51 МПК А 61 В 6/03, А 61 К 51/04, А 61 Р 43/00 (2006.01). Способ диагностики МРТ-негативных АКТГ-секретирующих аденом гипофиза [Текст] / У.А. Цой, Д.В. Рыжкова, В.Ю. Черebilло, А.Б. Далматова, Л.В. Белоусова, **Н.В. Курицына** [и др.] ; заявитель и патентообладатель ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. - № 2018135814 ; заявл. 09.10.2018 ; опубл. 03.09.2019, Бюл. № 25. – С. 1-10.

### Список сокращений

АКТГ – адренокортикотропный гормон

БДТ – большой дексаметазоновый тест

БК – болезнь Кушинга

ВНН – вторичная надпочечниковая недостаточность

ГКС – глюкокортикостероиды

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИГХИ – иммуногистохимическое исследование

КРГ - кортикотропин-рилизинг гормон

КТ – компьютерная томография

МДТ – малый дексаметазоновый тест

Me - медиана

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

СКСМ – свободный кортизол в суточной моче

СО – стандартное отклонение

ТСА – трансфеноидальная аденомэктомия

ЭХЛА – электрохемилюминисцентный анализ