

Григорян Карен

**ТАКТИКА ОБСЛЕДОВАНИЯ И ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ С
ИНЦИДЕНТАЛОМАМИ НАДПОЧЕЧНИКОВ**

14.01.02 – эндокринология
14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Ворохобина Наталья Владимировна – доктор медицинских наук профессор

Великанова Людмила Иосифовна – доктор биологических наук профессор

Официальные оппоненты:

Волкова Наталья Ивановна – доктор медицинских наук профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра внутренних болезней № 3, заведующая

Зыбина Наталья Николаевна – доктор биологических наук профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, отдел лабораторной диагностики, заведующая

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2018 года 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).

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).

Автореферат разослан «__» _____ 2018 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.054.03

кандидат медицинских наук

Леонова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Опухоли надпочечников, случайно обнаруженные при проведении визуализирующих методов обследования для диагностики заболеваний, не связанных с надпочечниками, называются «инциденталомами». В связи с активным применением визуализирующих технологий в медицине за последние 20–25 лет существенно увеличилось количество пациентов с инциденталомами надпочечников (Bovio S. et al., 2006; Fischer E. and Beuschlein F., 2013; Zeiger M.A. et al., 2011). В общей популяции встречаемость инциденталом надпочечников колеблется от 1 до 4,2% (Bovio S. et al., 2006; Davenport C. et al., 2011; Morelli V. et al., 2014; Young W.F., 2007).

Больные с инциденталомами надпочечников не предъявляют жалоб, обусловленных заболеваниями надпочечников. Однако, у данных больных могут встречаться такие заболевания, как сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, дислипидемия, остеопороз, ожирение (Grumbach M.M. et al., 2003; Slavik, M., Reincke M., 2010). Несмотря на отсутствие клинических признаков гормональной активности, всем больным с образованиями надпочечников рекомендуется исключать повышение секреции гормонов (Бельцевич Д.Г. и соавт., 2016; Fassnacht M. et al., 2016; Leidig-Bruckner G., 2014).

С активным развитием хроматографических методов исследования, позволяющих определять одномоментно различные стероидные гормоны в одной пробе биологической жидкости, улучшилось выявление гормональной активности опухолей надпочечников на ранних этапах (Krone N. et al., 2010; Shackleton C.H., 2010; Taylor A.E. et al., 2015). Использование данных методов позволяет определять нарушения адrenaлового стероидогенеза и метаболизма стероидных гормонов коры надпочечников у пациентов без клинических проявлений заболеваний надпочечников (Arlt W. et al., 2011, 2017; Ching S.Y.L. et al., 2006; Kerkhofs T.M.A. et al., 2015).

Согласно различным исследованиям, посвященным инциденталомам надпочечников, встречаемость гормонально-неактивных аденом надпочечников составляет более 60% всех случаев (Bernini G.P. et al., 2002; Cawood T.J. et al., 2009; Kloos R.T. et al., 1995; Mansmann G. et al., 2004; Young W.F., 2007). Несмотря на преимущественно доброкачественные опухоли у данной когорты больных, необходимо исключать наличие злокачественного процесса (Dinnes J. et al., 2016; Fassnacht M. et al., 2016; Leidig-Bruckner G., 2014). Современное представление о патогенезе аденом надпочечников, выявленных случайно при проведении визуализирующих методов обследования, основано на отсутствии их малигнизации (Cawood T.J. et al., 2009; Cho Y.Y. et al., 2013; Fassnacht M. et al., 2016; Song J. et al., 2008; Terzolo M. et al., 2011; Vassilatou E. et al., 2009). По мнению ряда исследователей, гипотеза о малигнизации аденом надпочечников может иметь место в отдельных редких случаях (Belmihoub I. et al., 2017; Drelon C. et al., 2012; Heaton J.H. et al., 2012; Ozsari L. et al., 2016; Pohlink C. et al., 2004).

Таким образом, сведения о возможной повышенной секреции, нарушении стероидогенеза и метаболизма кортикостероидов у больных с инциденталомами надпочечников, наличие гипотезы о возможной малигнизации аденом надпочечников требуют проведения дальнейших исследований с применением методов хроматографии, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хромато-масс-спектрометрия и жидкостная хромато-масс-спектрометрия.

Степень разработанности темы исследования

Работы по изучению нарушений адrenaлового стероидогенеза и метаболизма стероидных гормонов коры надпочечников хроматографическими методами у больных с образованиями надпочечников известны с 1980 года (de Pedrazzini M.E. et al., 1983;

Phillipoum G., 1982). В настоящее время происходит активное изучение синтеза и метаболизма надпочечниковых стероидов в биологических жидкостях у больных с различными заболеваниями гипофизарно-адrenalовой системы методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хромато-масс-спектрометрии и жидкостной хромато-масс-спектрометрии, обладающих высокой точностью и способностью одновременно определять большинство стероидных гормонов в одной пробе крови или мочи (Ceccato F. et al., 2014; Krone N. et al., 2010; McDonald J.G. et al., 2011; Shackleton C.H., 2010; Taylor A.E. et al., 2015).

В работе V. Morelli и соавт. оценивалась степень активности изофермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа, участвующего в превращении кортизола в кортизон и кортикостерона в 11-дегидроксикортикостерон у больных с инциденталомиями надпочечников с помощью определения соотношений экскреций с суточной мочой свободного кортизола к свободному кортизону методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии (Morelli V. et al., 2016). В 2003 году в исследовании N. Szucs и соавт. проводилось определение уровня 6 β -гидроксикортизола в крови и моче у больных с инциденталомиями надпочечников (Szucs N. et al., 2003). В данном исследовании было показано наличие гиперсекреции 6 β -гидроксикортизола у больных с синдромом Кушинга. В ряде работ с использованием газовой хромато-масс-спектрометрии были исследованы стероидные профили мочи у больных с инциденталомиями надпочечников, что позволило дифференцировать доброкачественные образования от злокачественных на дооперационном этапе (Arlt W. et al., 2011; Calissendorff J. et al., 2016; Kerkhofs T.M.A. et al., 2015). В работе W. Arlt и соавт. у больных с автономной гиперсекрецией кортизола были исследованы андрогенная, глюкокортикоидная и минералокортикоидная функции коры надпочечников с определением стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии (Arlt W. et al., 2017).

В ряде исследований за период наблюдения 12–60 месяцев не было выявлено случаев развития аденокортикального рака у больных с инциденталомиями надпочечников без визуализирующих признаков злокачественности образований надпочечников (Cho Y.Y. et al., 2013; Song J.H. et al., 2008; Vassilatou E. et al., 2009). При изучении патогенеза развития опухолей надпочечников в тканях аденокортикальных опухолей были выявлены бета-катениновые мутации, встречающиеся как у больных с аденокортикальной аденомой, так и у больных с аденокортикальным раком (Assié G. et al., 2014; Ronchi et al., 2013). В экспериментальных исследованиях на мышах J.H. Heaton и соавт. (2012 г.) и C. Drelon и соавт. (2012 г.) показали трансформацию аденокортикальной аденомы в аденокортикальный рак путем активации бета-катенина и инсулиноподобного фактора роста 2 (Drelon C. et al., 2012; Heaton J.H. et al., 2012).

Цель исследования

Изучить особенности стероидогенеза и метаболизма кортикостероидов у больных с инциденталомиями коры надпочечников с использованием хроматографических методов исследования для определения тактики ведения больных.

Задачи исследования

1. Изучить особенности стероидогенеза и метаболизма кортикостероидов у больных с инциденталомиями коры надпочечников с различным индексом массы тела.
2. Оценить роль определения предшественников альдостерона, кортизола и их метаболитов в биологических жидкостях хроматографическими методами у больных с инциденталомиями коры надпочечников для решения вопроса тактики ведения больных.

3. Установить гормональные изменения у больных инциденталомиями надпочечников с признаками злокачественности по данным исследования стероидного профиля мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

Научная новизна

У больных с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников и ожирением выявлены лабораторные признаки частичного дефицита 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа и увеличения активности изофермента цитохром P₄₅₀ 3A4. У пациентов с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников без ожирения обнаружено повышение в сыворотке крови предшественника альдостерона – 18-гидроксикортикостерона и экскреции метаболитов кортикостерона с мочой.

Впервые в России было использовано количественное определение экскреции стероидов и их метаболитов с мочой методом газовой хромато-масс-спектрометрии у больных с инциденталомиями надпочечников.

У больных с инциденталомиями надпочечников с неполным подавлением кортизола в сыворотке крови после пробы с 1 мг дексаметазона хроматографическими методами было выявлено увеличение содержания предшественников альдостерона и кортизола в крови и повышенная экскреция их 5 β -тетрагидрометаболитов с мочой.

У прооперированных пациентов с аденомой надпочечников и со злокачественным потенциалом 1–3 балла по шкале L.M. Weiss по результатам анализа послеоперационного материала было установлено методом газовой хромато-масс-спектрометрии увеличение экскреции с мочой андрогенов, тетрагидро-11-дезоксикортизола и метаболитов прогестинов, а также определены неклассические 5-ene-прегнены.

Теоретическая и практическая значимость исследования

У пациентов с ожирением и гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников методом высокоэффективной жидкостной хроматографии были выявлены изменения, характерные для частичного дефицита 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа. Больным с гормонально-неактивными аденомами надпочечников и с частичным дефицитом 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа целесообразно определение кортикостероидов в крови и моче при прогрессировании эндогенного гиперкортицизма. У больных с образованиями коры надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после пробы с 1 мг дексаметазона с помощью хроматографических методов исследования было выявлено увеличение предшественников альдостерона в крови и в моче. У пациентов с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников без ожирения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено увеличение уровня 18-гидроксикортикостерона в сыворотке крови, а методом газовой хромато-масс-спектрометрии повышенная экскреция метаболитов кортикостерона с суточной мочой, что свидетельствует о повышении минералокортикоидной функции и требует определения альдостерон-ренинового соотношения при появлении артериальной гипертензии или при ее прогрессировании. Изменения стероидных профилей мочи, полученные методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у прооперированных больных со злокачественным потенциалом 1–3 балла по шкале L.M. Weiss по результатам гистологического исследования послеоперационного материала необходимо учитывать при решении вопроса о хирургическом лечении образований надпочечников. При использовании методов иммуноанализа признаки повышения гормональной активности были выявлены у 25 (26,3%) больных с инциденталомиями надпочечников, а при сочетании методов иммуноанализа с хроматографическими методами признаки гормональной активности были у 62 (65,3%) обследованных больных.

Методология и методы исследования

Использованная в работе методология базировалась на современных подходах к диагностике инциденталом надпочечников.

Работа выполнена в дизайне сравнительного проспективного исследования по типу случай-контроль. Был использован аналитический метод при изучении литературных источников по проблеме исследования, эмпирические методы при проведении наблюдения, сравнения, логический анализ.

Образования надпочечников у пациентов были выявлены случайно при проведении ультразвукового исследования брюшной полости, компьютерной томографии органов брюшной полости или магнитно-резонансной томографии по поводу жалоб, не связанных с заболеваниями надпочечников.

С целью исключения гиперпродукции катехоламинов у пациентов с инциденталомами надпочечников определяли уровни метанефрина и норметанефрина плазмы крови методом иммуноферментного анализа.

Для исключения первичного гиперальдостеронизма всем больным определяли альдостерон-рениновое соотношение методом иммуноферментного анализа.

Всем обследованным проводилось изучение содержания кортизола в сыворотке крови в 09-00 ч., 21-00 ч. и через 12 часов после приема 1 мг дексаметазона в 23-00 ч., адренокортикотропного гормона плазмы крови в 09-00 ч. методом иммунохемилюминисцентного анализа и уровня свободного кортизола слюны в 23-00 ч. методом электроиммунохемилюминисцентного анализа.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли глюкокортикоиды и минералокортикоиды в крови и моче.

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии изучали экскрецию с суточной мочой метаболитов андрогенов, прогестин, глюкокортикоидов и минералокортикоидов.

Больным с инциденталомами надпочечников с признаками злокачественности и гормональной активности проводили адреналэктомию. Злокачественный потенциал послеоперационного материала оценивался по критериям световой микроскопии шкалы L.M. Weiss.

Статистическая обработка и визуализация полученных результатов осуществлялись с применением пакета программ для статистического анализа STATISTICA for WINDOWS версия 7, GraphPad Prism 6 и Unscramble.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У больных с инциденталомами коры надпочечников и ожирением выявлены гормональные признаки частичного дефицита фермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа и повышение активности изофермента цитохром P450 3A4.
2. У больных с инциденталомами коры надпочечников без ожирения по данным классических и хроматографических методов обследования обнаружено повышение предшественников альдостерона и их метаболитов.
3. У больных с инциденталомами коры надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона установлено увеличение биологически активных глюкокортикоидов и минералокортикоидов.
4. По данным газовой хромато-масс-спектрометрии мочи выявлены изменения стероидогенеза у больных со злокачественным потенциалом аденом надпочечников 1–3 балла по шкале L. M. Weiss по результатам послеоперационной гистологии.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность полученных результатов определяется достаточным объемом и репрезентативностью выборок обследуемых, высокой информативностью использованных методик обследования. Методы статистической обработки полученных данных адекватны поставленным задачам. Дизайн исследования и задачи, поставленные в работе, соответствуют намеченной цели.

Апробация и внедрение результатов работы в практику

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на VII Всероссийском диабетологическом конгрессе (г. Москва 25–27 февраля 2015 г.), на 58-м симпозиуме Немецкого сообщества эндокринологов (г. Любек, Германия 18–21 марта 2015 г.), на Юбилейной научной сессии «От трансляционных исследований – к инновациям в медицине» (г. Санкт-Петербург 28–30 октября 2015 г.), на VII Всероссийском конгрессе эндокринологов (г. Москва 02–05 марта 2016 г.), на 4-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике» (г. Санкт-Петербург 19 апреля 2016 г.), на собрании ассоциаций эндокринологов германоязычных стран «D.A.CH. Tagung 2016» (г. Мюнхен, Германия 28–29 мая 2016 г.), на международной конференции «Applied Chemistry» (г. Хьюстон, США 17–18 октября 2016 г.), на 60-м конгрессе Немецкого сообщества эндокринологов (г. Вюрцбург, Германия 15–17 марта 2017 г.), на 5-й научно-практической конференции молодых ученых специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике» (г. Санкт-Петербург 25 апреля 2017 г.).

Результаты исследования внедрены в клиническую практику эндокринологических отделений СПб ГБУЗ «Городская больница Святой преподобномученицы Елизаветы», клиники имени Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ имени И.И. Мечникова Минздрава России, отделения нефрологии и эндокринологии больницы имени Петра Великого ФГБОУ ВО СЗГМУ имени И.И. Мечникова Минздрава России, используются в учебном процессе на кафедре эндокринологии имени акад. В.Г. Баранова ФГБОУ ВО СЗГМУ имени И.И. Мечникова Минздрава России.

По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных исследований.

Личное участие автора

Автор участвовал в разработке дизайна исследования, изучил отечественные и зарубежные источники литературы по теме диссертации, осуществил сбор первичного материала, отбор пациентов по теме исследования, а также анализ результатов хроматографических исследований. Диссертантом была проведена статистическая обработка результатов, их анализ и обобщение.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, результатам собственных исследований, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Материалы диссертации изложены на 188 страницах машинописного текста, иллюстрированы 64 таблицами и 5 рисунками. Список литературы включает 40 отечественных и 274 зарубежных источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Были обследованы 117 больных с инциденталомиями надпочечников (ИН) в возрасте 55,0 (38,5–61,3) лет. Среди обследованных больных были 36 мужчин и 81 женщина. Обследование проводилось с 2014 по 2016 гг. на базах кафедры эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России: на эндокринологических отделениях клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России и Ленинградской Областной клинической больницы. У всех больных было выявлено образование надпочечников при проведении визуализирующих методов исследования (ультразвукового исследования, компьютерной томографии), выполненных по поводу жалоб, не связанных с заболеваниями надпочечников. Размер опухолей у больных был 2,9 (1,8–4,9) см, нативная плотность (НП) образований надпочечников при проведении компьютерной томографии (КТ) органов брюшной полости была 15 (5–27) HU. Индекс массы тела (ИМТ) составил 29,0 (26,0–32,3) кг/м².

Размер, структура ткани, контуры, НП, расположение относительно других органов образований надпочечников оценивались на рентгеновском компьютерном томографе «SOMATOMAR» фирмы «Siemens» (США) на базе клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России и на многослойном компьютерном томографе «Aquilon» фирмы «Toshiba» (Япония) в Ленинградской Областной клинической больнице.

Проводился анализ жалоб больных и анамнестических данных, сроков выявления образований надпочечников, наличия длительности артериальной гипертензии (АГ) и эффективности ее лечения, нарушений углеводного обмена, ожирения и других сопутствующих заболеваний.

Всем обследованным были выполнены клинический и биохимический анализы крови на биохимическом анализаторе «Olympus-480» (Япония) с помощью стандартных наборов фирмы Roche (Швейцария).

Больные с сопутствующей тяжелой патологией со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной и мочевыделительной систем, а также больные, длительно принимающие глюкокортикоиды (более 30 дней), не были включены в исследование.

С целью исключения гиперпродукции катехоламинов у пациентов с ИН определяли уровни метанефрина и норметанефрина плазмы методом иммуноферментного анализа с помощью стандартных тест-наборов фирмы «DRG Instruments» (Германия). У 4 больных с ИН была выявлена катехоламинпродуцирующая опухоль.

Для исключения первичного гиперальдостеронизма (ПГА) всем больным определяли альдостерон и ренин в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-наборов фирмы «DRG Instruments» (Германия). Оптическую плотность измеряли на анализаторе «STAT FAX-2100» (США). Рассчитывали альдостерон-рениновое соотношение (АРС), у больных с ИН и уровнем АРС $\geq$ 30 проводили тест с внутривенным введением солевого раствора. У 3 больных был выявлен ПГА.

С целью оценки глюкокортикоидной функции коры надпочечников всем больным определяли содержание кортизола в 09-00 ч., 21-00 ч. и через 12 ч. после приема 1 мг дексаметазона в 23-00 ч. в сыворотке крови, аденокортикотропный гормон (АКТГ) плазмы в 09-00 ч. иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе «ИММУЛАЙТ-2000» фирмы «Siemens» (Германия) с помощью наборов «Siemens» (Германия) и содержание свободного кортизола слюны (СКС) в 23-00 ч. методом электроиммунохемилюминесцентного анализа на аппарате «Elecsys-2010» фирмы «F.Hoffman La-Roche Ltd.» (Швейцария).

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) хроматографии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И.

Мечникова Минздрава России определяли уровни 7 кортикостероидов в сыворотке крови и суточную экскрецию с мочой кортикостероидов [свободный кортизол (UFF), свободный кортизон (UFE), 18-гидроксикортикостерон (U18-ОНВ) и 6 β -гидроксикортизол (6 β -ОНВ)] на жидкостном хроматографе фирмы «Agilent 1200» (США). С целью оценки активности ферментов стероидогенеза рассчитывали соотношения кортикостероидов в крови [кортизол / кортизон (F/E), кортикостерон / 11-дегидроксикортикостерон (B/A)] и в суточной моче (UFF / UFE, 6 β -ОНВ / UFF).

В НИЛ хроматографии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России с использованием газового хромато-масс-спектрометра «SHIMADZU GCMS-QP2010 ULTRA» (Япония) ресурсного центра «Методы анализа состава веществ» Санкт-Петербургского государственного университета определяли стероидные профили мочи (СПМ) методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС). С помощью данного метода проводилось одномоментно определение 64 стероидов в 1 пробе суточной мочи, и имелась возможность оценить андрогенную, глюкокортикоидную и минералокортикоидную функции коры надпочечников у больных с ИН.

У всех больных с ИН оценивали размеры, структуру, контуры, однородность, НП, наличие инвазии капсулы, абсолютный процент вымывания контраста на 10 минуте (APW) и рост опухоли более 0,5 см в течение 6–12 месяцев по результатам КТ органов брюшной полости. Больным с признаками гормональной активности (ПГА, феохромоцитомы и автономная гиперпродукция кортизола) или злокачественности образования надпочечников по данным методов лучевой диагностики (размер образований ≥ 4 см и неоднородная структура, инвазия капсулы, НП > 10 HU, APW $< 40\%$, рост образования $\geq 0,5$ см за период 6–12 месяцев) была проведена адреналэктомия в хирургическом отделении клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России.

Вопрос об адреналэктомии у больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после подавляющего дексаметазонового теста с 1 мг (ПДТ1) решался индивидуально для каждого пациента, учитывался возраст пациента, продолжительность гиперкортицизма у больного с ИН, наличие сопутствующих заболеваний (АГ, ожирение, сахарный диабет и остеопороз) и размер образования надпочечников.

Злокачественный потенциал (ЗП) послеоперационного материала оценивался по критериям световой микроскопии по шкале L.M. Weiss. Сумма баллов ЗП ≥ 4 свидетельствовала о наличии адренокортикального рака (АКР), менее 4 баллов – адренокортикальной аденоме (АКА).

Непрооперированным больным с ИН проводили КТ органов брюшной полости через 6–12 месяцев для оценки роста образования надпочечников за этот период времени.

В результате проведения гормонального обследования классическими лабораторными методами и гистологического обследования послеоперационного материала были проведено распределение больных по нозологическим формам (табл. 1).

Таблица 1 — Распределение больных с инциденталомы надпочечников по их нозологическим формам

Название	Количество больных (n=117)
Больные с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников	70 (59,8%)
Больные с автономной секрецией кортизола	25 (21,4%)
Больные с первичным гиперальдостеронизмом	3
Больные с адренокортикальным раком	3
Больные с феохромоцитомой	4
Больные с миелилипомой надпочечника	4

Продолжение таблицы 1

Название	Количество больных (n=117)
Больные с гемангиомой надпочечника	2
Больные с эндотелиальной псевдокистой	2
Больные с шванномой надпочечника	2
Больные с метастазами в надпочечник	2

В исследование были включены 70 (59,8%) больных с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников (ГНА) и 25 (21,4%) больных с автономной секрецией кортизола (с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1). Больные с ГНА были разделены на 2 группы: с ожирением и без ожирения. Прооперированные больные с ГНА и прооперированные больные с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 были разделены на группы в зависимости от злокачественного потенциала (ЗП) по шкале L.M.Weiss: со ЗП 1–3 балла и с отсутствием ЗП 1–3 балла.

В группы сравнения вошли 30 пациентов с ожирением без образований надпочечников, 43 пациента с избыточной массой тела и ожирением, 30 здоровых лиц без ожирения.

Статистический анализ данных

Основные количественные характеристики больных представлены в виде медианы (Me), 25-го перцентиля и 75-го перцентиля (Q_{25} – Q_{75}). Качественные параметры были представлены в виде процентов. Использовался непараметрический критерий Манна-Уитни при сравнении результатов, полученных в исследуемых группах. Для сравнения качественных пропорций использовался критерий «хи²» и точный критерий Фишера. Статистически достоверным считался $p < 0,05$, все p рассчитывались как двухсторонние.

Для анализа и графического представления данных использовались статистические пакеты STATISTICA for WINDOWS версия 7 (США), GraphPad Prism 6 for Windows, Version 6.07 (США) и Unscramble (США).

Результаты обследования больных с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников и ожирением

В исследовании участвовали 33 больных (11 мужчин и 22 женщины) с ГНА и ожирением в возрасте 54 (50–59) лет с ИМТ 31,1 (30,0 –34,3) кг/м². Группа сравнения состояла из 30 больных (12 мужчин и 18 женщин) с ожирением, без образований надпочечников в возрасте 30 (27–48) лет. ИМТ данных больных составил 32,0 (30,0–35,3) кг/м².

Размер опухолей надпочечников у больных с ГНА и ожирением был 2,5 (1,7–4,6) см. НП образований надпочечников у больных с ГНА и ожирением при проведении КТ органов брюшной полости составила 16 (5–25) HU.

У больных с ГНА и ожирением наиболее часто встречались следующие сопутствующие заболевания: АГ у 25 (78,5%) больных, дислипидемия у 19 (57,8%) пациентов. АГ была у 10 (33,3%) и дислипидемия — у 6 больных ожирением без образований надпочечников.

У больных с ГНА и ожирением по сравнению с больными ожирением без ИН отмечалось повышение альдостерона и снижение ренина в пределах референсных значений для здоровых людей, при этом АРС в обследуемых группах не отличалось (табл. 2).

Таблица 2 — Показатели минералокортикоидной функции коры надпочечников у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) и ожирением и у больных ожирением без образований надпочечников

Показатель	Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)		p
	Больные с ГНА и ожирением (n=33)	Больные ожирением без ИН (n=30)	
Альдостерон, пг/мл	76,5 (51,2–112,8)	49,1 (22,4–60,1)	0,0048
Ренин, пг/мл	3,8 (1,6–10,9)	6,9 (3,4–34,4)	0,01
Альдостерон-рениновое соотношение (АРС)	15,0 (4,2–21,5)	5,7 (0,9–22,9)	0,17

Примечание: p – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА и ожирением с показателями больных ожирением без ИН.

Методом ВЭЖХ у больных с ГНА и ожирением и у больных ожирением без ИН определяли уровни кортикостероидов в крови. У больных с ГНА и ожирением в отличие от больных ожирением без ИН был повышен уровень кортикостерона (В), 11-дезоксикортизола (S) и понижен уровень 11-дегидрокортикостерона (А) в сыворотке крови (рис. 1).

У больных с ГНА и ожирением по сравнению с больными ожирением без ИН было повышено соотношение В / А (рис. 1) Увеличение уровня В в сыворотке крови и соотношения В / А может указывать на частичное снижение активности 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа (11 β -ГСДГ-2).

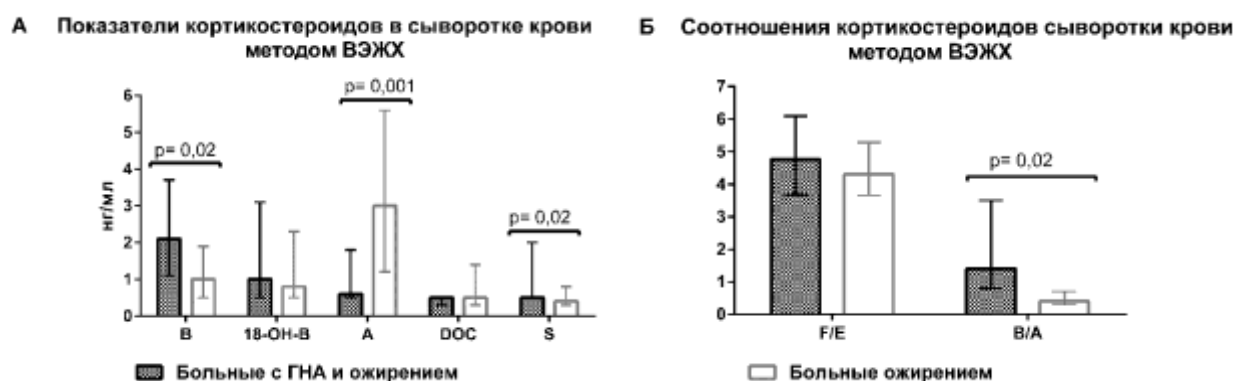


Рисунок 1 (А–Б) — Уровни и соотношения кортикостероидов в крови, полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) и ожирением и у больных ожирением без образований надпочечников

Примечание: p – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА и ожирением с показателями больных ожирением без ИН.

Определялась экскреция кортикостероидов с мочой методом ВЭЖХ (табл. 3). У больных с ГНА и ожирением в отличие от больных ожирением без ИН было повышено соотношение UFF / UFE, указывающее на частичное снижение активности 11 β -ГСДГ-2, и соотношение 6 β -ОНF / UFF, являющее показателем повышенной активности изофермента цитохром P₄₅₀3A4 (CYP3A4).

У больных с ГНА и ожирением по сравнению с больными ожирением без ИН было повышено соотношение тетрагидрокортикостерон / тетрагидро-11-дегидрокортикостерон (ТНВ / ТНА), полученное методом ГХ-МС. Увеличение соотношения ТНВ / ТНА также может указывать на снижение активности 11 β -ГСДГ-2 (табл. 3)

Таблица 3 — Соотношения экскреции кортикостероидов с суточной мочой у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) и ожирением и у больных ожирением без образований надпочечников

Соотношения	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅)		р
	Больные с ГНА и ожирением (n=33)	Больные ожирением без ИН (n=30)	
Соотношение UFF / UFE	0,55 (0,42–0,59)	0,40 (0,28–0,41)	0,048
Соотношение 6β-OHF / UFF	6,4 (4,0–9,3)	4,3 (2,1–5,7)	0,02
Соотношение THB/ THA	2,8 (1,2–4,3)	0,9 (0,6–2,5)	0,01

Примечание: р – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА и ожирением с показателями больных ожирением без ИН.

Таким образом, у больных с ГНА и ожирением хроматографическими методами обследования было выявлено частичное снижение активности 11β-ГСДГ-2, являющее, возможно, причиной развития гиперкортицизма, и повышение активности изофермента СУР3А4, обусловленное наличием гиперкортицизма из-за частичного дефицита 11β-ГСДГ-2.

Результаты обследования больных с гормонально-неактивными аденомами коры надпочечников без ожирения

В исследование были включены 37 больных (16 мужчин и 21 женщина) с ГНА без ожирения в возрасте 56 (45–63) лет и 36 здоровых лиц (14 мужчин и 22 женщины) в возрасте 28 (24–33) лет, представляющие группу сравнения. ИМТ больных с ГНА без ожирения был 26,8 (26,0–27,8) кг/м², ИМТ группы сравнения — 23,5 (23,0–25,0) кг/м².

Размер опухолей надпочечников у больных с ГНА без ожирения составил 2,7 (1,8–3,3) см, НП образований надпочечников у больных с ГНА без ожирения при проведении КТ органов брюшной полости была 10 (5–20) НУ.

По данным стандартных лабораторных методов обследования, основанных на иммуноанализе, у больных с ГНА без ожирения была исключена гормональная активность. Следует отметить, что уровень АКТГ плазмы крови у больных с ГНА без ожирения был понижен по сравнению с АКТГ плазмы крови здоровых лиц, а СКС был повышен у больных с ГНА без ожирения в отличие от СКС здоровых лиц (табл. 4). Уровень ренина в сыворотке крови у больных с ГНА без ожирения по сравнению с ренином сыворотки крови здоровых лиц был понижен, а АРС у больных с ГНА без ожирения в отличие от АРС здоровых лиц было повышено, но оно находилось в пределах референсных значений (табл. 4).

Таблица 4 — Показатели минералокортикоидной и глюкокортикоидной функции коры надпочечников у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) без ожирения и у здоровых лиц

Названия кортикостероидов	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅),		р
	Больные с ГНА без ожирения (n=37)	Здоровые лица (n=36)	
АКТГ в 9-00 час, пг/мл	11,2 (6,9–16,3)	25,0 (16,0–39,0)	0,0016
Кортизол в 9-00 ч, нмоль/л	387 (340–458)	384 (331–432)	0,53
Кортизол в 21-00 ч,	110 (82–207)	135 (116–165)	0,42
Кв/Ку x 100, %	25,6 (20,2–53,5)	36,2 (29,6–45,6)	0,42
Кортизол на пробе с 1 мг дексаметазона, нмоль/л	32,9 (25,1–44,2)	23,3 (19,8–32,1)	0,14

Продолжение таблицы 4

Названия кортикостероидов	Me (Q ₂₅ –Q ₇₅),		p
	Больные с ГНА без ожирения (n=37)	Здоровые лица (n=36)	
Свободный кортизол в слюне, нмоль/л	11,5 (7,1–15,7)	6,2 (4,5–8,1)	0,001
Альдостерон, пг/мл	70,0 (54,3–105,0)	65 (48–85)	0,53
Ренин, пг/мл	3,46 (1,45–5,95)	10,1 (6,95–15,5)	0,01
АРС	18,40 (8,66–46,30)	5,07 (3,33–12,70)	0,0004

Примечание: p – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА без ожирения с показателями здоровых лиц.

Методом ВЭЖХ у больных с ГНА без ожирения определяли уровни кортикостероидов в сыворотке крови и суточную экскрецию кортикостероидов с мочой. У больных с ГНА без ожирения в отличие от здоровых лиц был повышен уровень предшественника альдостерона – 18-гидроксикортикостерона (18-ОНВ) в сыворотке крови (рис. 2).

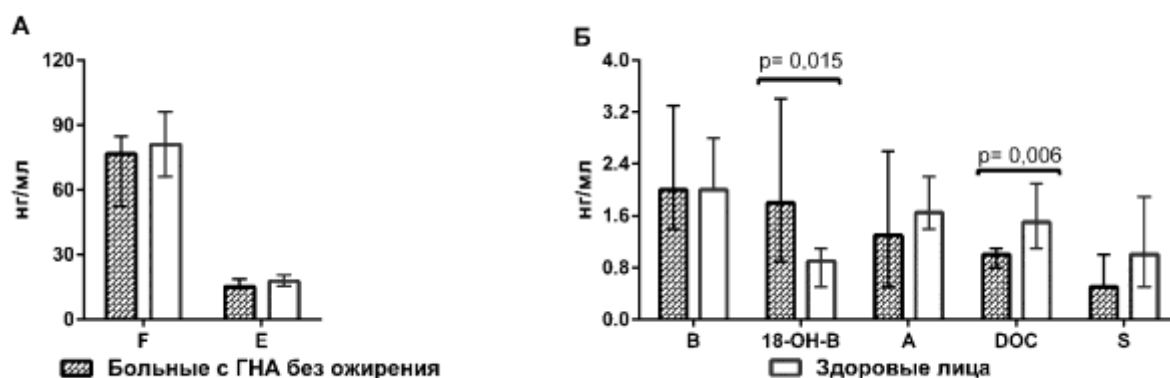


Рисунок 2 (А–Б) — Уровни кортикостероидов в крови, полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) без ожирения и у здоровых лиц

Примечание: p – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА без ожирения с показателями здоровых лиц.

По данным ГХ-МС у больных с ГНА без ожирения по сравнению со здоровыми лицами была повышена суточная экскреция ТНВ и allo-ТНВ, являющихся метаболитами предшественника альдостерона – В (табл. 5). Таким образом, хроматографическими методами обследования у больных с ГНА без ожирения была выявлена повышенная минералокортикоидная функция коры надпочечников.

Таблица 5— Экскреция кортикостероидов с суточной мочой, полученная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у больных с гормонально-неактивными аденомами (ГНА) без ожирения и у здоровых лиц

Названия метаболитов кортикостероидов	Me (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/24 час		p
	Больные с ГНА без ожирения (n=37)	Здоровые лица (n=36)	
Тетрагидро-11-дезоксикортикостерон (THDOC)	57,5 (18,5–120)	58,5 (46,5–66,5)	0,89

Продолжение таблицы 5

Названия метаболитов кортикостероидов	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/24 час		р
	Больные с ГНА без ожирения (n=37)	Здоровые лица (n=36)	
Тетрагидрокортикостерон (ТНВ)	139 (88–236)	59 (39–83)	0,001
алло-Тетрагидрокортикостерон (allo-ТНВ)	169 (105–243)	55 (30–111)	0,009
Тетрагидро-11-дегидрокортикостерон (ТНА)	44,5 (31,5–76,0)	63,0 (40,0–100,0)	0,1
Прегнан-3,11,20,21-тетрол (ННВ)	143 (82–328)	98 (65–254)	0,44

Примечание: р – значение достоверности при сравнении показателей больных с ГНА без ожирения с показателями здоровых лиц.

Увеличение уровня 18-ОН-В, снижение уровня ренина в сыворотке крови, повышенная экскреция allo-ТНВ и ТНВ с суточной мочой у больных с ГНА без ожирения может свидетельствовать о повышении минералокортикоидной функции коры надпочечников у этих больных. У таких больных невозможно исключить в дальнейшем развитие ПГА, что требует более тщательного их наблюдения с оценкой минералокортикоидной функции.

Результаты обследования у больных с образованиями коры надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после пробы с 1 мг дексаметазона (автономная секреция кортизола)

Обследованы были 25 больных (9 мужчин и 16 женщин) с образованиями надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 и группа сравнения, состоящая из 43 человек (14 мужчин и 29 женщин). Возраст больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 и возраст группы сравнения составили 60 (55–65) лет и 35 (29–48) лет соответственно. ИМТ у больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 был 32 (26–33) кг/м², ИМТ группы сравнения— 30 (27–31) кг/м².

По данным стандартных иммунологических методов обследования у больных с образованиями коры надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 в отличие от группы сравнения был повышен уровень кортизола в сыворотке крови, через 12 ч. после приема 1 мг дексаметазона в 23-00 ч (табл. 6). На основании результатов стандартных лабораторных методов обследования у больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 невозможно было исключить наличие автономной гиперсекреции кортизола. Уровень ренина сыворотки крови у больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 был понижен по сравнению с ренином сыворотки крови группы сравнения (табл. 6).

Размер опухолей надпочечников у больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 составлял 3,2 (2,25–4,2) см. НП образований надпочечников при проведении КТ органов брюшной полости была 13 (8–27) HU.

У больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 чаще встречались такие сопутствующие заболевания, как АГ 22 (88%), ожирение 20 (80%), дислипидемия 18 (72%) и сахарный диабет 2 типа 12 (48%). В группе сравнения ожирение было у 23/ (53,5%), АГ — у 10 (23,3%), дислипидемия — у 9 и сахарный диабет 2 типа — у 3 обследованных больных.

Таблица 6 — Показатели минералокортикоидной и глюкокортикоидной функции коры надпочечников у больных с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона и группы сравнения

Названия кортикостероидов	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅),		р
	Больные с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 (n=25)	Группа сравнения (n=43)	
АКТГ в 9-00 час, пг/мл	7,5 (5,7–12,9)	23,7 (15,8–38,0)	0,0001
Кортизол в 9-00 ч, нмоль/л	430 (364–526)	390 (348–443)	0,16
Кортизол в 21-00 ч,	226 (199–400)	153 (125–178)	0,0001
Кв/Ку x 100, %	62,4 (46,4–81,7)	37,1 (29,4–45,9)	0,0002
Кортизол на пробе с 1 мг дексаметазона, нмоль/л	134 (92–193)	43 (32–47)	0,002
Свободный кортизол в слюне, нмоль/л	14,4 (13,2–22,7)	6,8 (4,8–8,8)	0,0001
Альдостерон, пг/мл	56,5 (45,9–96,5)	70 (45–101)	0,67
Ренин, пг/мл	3,8 (2,0–10,7)	10,1 (6,0–17,0)	0,016
АРС	21,5 (6,3–25,2)	5,7 (0,9–22,9)	0,27

Примечание: р – значение достоверности при сравнении показателей больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 с показателями группы сравнения.

У больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 в отличие от группы сравнения был понижен уровень Е, повышены уровни F, В, 18-ОНВ в сыворотке крови и соотношения F / Е и В / А, полученные методом ВЭЖХ (рис. 3).

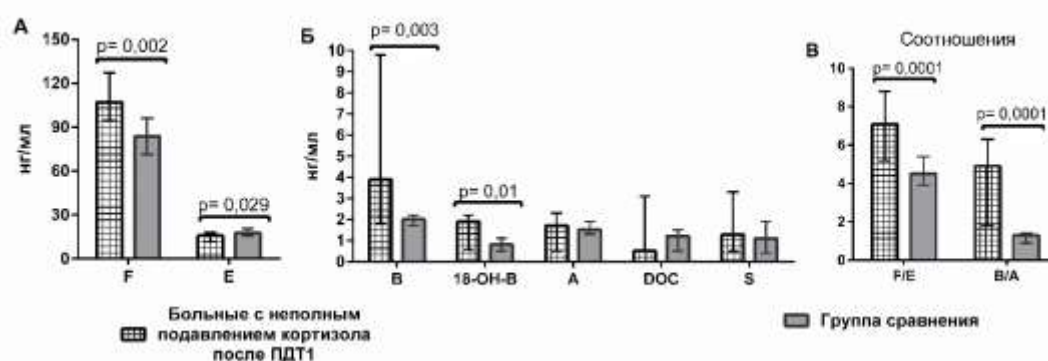


Рисунок 3 (А–В) — Показатели глюкокортикоидной и минералокортикоидной функции коры надпочечников в сыворотке крови, полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, у больных с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона

Примечание: р – значение достоверности при сравнении показателей больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 с показателями группы сравнения.

У больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 в отличие от группы сравнения методом ВЭЖХ была выявлена повышенная суточная экскреция UFF, UFE и U18-ОН-В с мочой (табл. 7).

Следовательно, определением кортикостероидов в крови и моче методом ВЭЖХ у больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 была подтверждена гиперпродукция кортизола опухолью коры надпочечников.

Таблица 7 — Экскреция кортикостероидов с суточной мочой, полученная методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, у больных с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона

Названия стероидов	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/24 ч		р
	Больные с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 (n=25)	Группа сравнения (n=43)	
Свободный кортизол (UFF)	44,9 (25,7–57,4)	20,8 (13,4–25,1)	0,0001
Свободный кортизон (UFE)	87,1 (78,2–110,3)	55 (44,4–69,4)	0,0001
6β-гидрокортизол (6β-OHF)	136 (92–182)	110 (55–185)	0,37
18-гидрокортикостерон (U18-ОН-В)	33,9 (32,8–42,8)	14,1 (12,0–22,5)	0,0001

Примечание: р – значение достоверности при сравнении показателей больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 с показателями группы сравнения.

У больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 в отличие от группы сравнения была повышена суточная экскреция метаболитов глюкокортикоидов: 5β-тетрагидрокортизола (THF), тетрагидро-11-дезоксикортизола (THS), α-кортолона, β-кортолона, суммы α-кортола и β-кортола, метаболитов кортикостерона (THB, allo-THB), полученная методом ГХ-МС (табл. 8).

Таблица 8 — Экскреция метаболитов кортикостероидов с суточной мочой, полученная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у больных с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона

Названия метаболитов кортикостероидов	Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/24 ч		р
	Больные с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 (n=25)	Группа сравнения (n=43)	
Тетрагидро-11-дезоксикортизол (THS)	135 (91–187)	61 (15–101)	0,01
Тетрагидрокортизон (THE)	1631 (1377–2154)	1396 (1160–1902)	0,39
5β-Тетрагидрокортизол (THF)	1102 (732–1438)	617 (416–714)	0,0001
алло-Тетрагидрокортизол (allo-THF)	686 (383–1018)	516 (316–892)	0,38
α-Кортолон (α-cortolone)	530 (392–634)	316 (225–529)	0,014
β-Кортолон (β-cortolone)	378 (228–530)	215 (149–304)	0,037
α-Кортол+β-кортол	97 (53–199)	35 (25–66)	0,005
Тетрагидрокортикостерон (THB)	164 (81,5–312)	67 (42,5–122)	0,008
алло-Тетрагидрокортикостерон (allo-THB)	246 (137–521)	116 (50–220)	0,017

Продолжение таблицы 8

Названия метаболитов кортикостероидов	Me (Q ₂₅ –Q ₇₅), мкг/24 ч		p
	Больные с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 (n=25)	Группа сравнения (n=43)	
Тетрагидро-11-дегидрокортикостерон (ТНА)	67 (25–224)	80 (47–118)	0,83

Примечание: p – значение достоверности при сравнении показателей больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1 с показателями группы сравнения.

Таким образом, было получено повышение глюкокортикоидной и минералокортикоидной функции коры надпочечников с применением хроматографических методов обследования у больных с неполным подавлением уровня кортизола после пробы с 1 мг дексаметазона.

Результаты обследования у прооперированных больных с образованиями коры надпочечников в зависимости от наличия злокачественного потенциала 1–3 балла по шкале L.M. Weiss

В исследование вошли 10 прооперированных больных (5 мужчин и 5 женщин) с аденомой коркового слоя надпочечников со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss, по результатам гистологического обследования послеоперационного материала, в возрасте 55 (51–59) лет и 15 прооперированных больных (6 мужчин и 9 женщин) с аденомой коркового коры надпочечников без ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss в возрасте 57,5 (55,5–63,5) лет. Среди 10 больных со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss 5 пациентов были с автономной гиперсекрецией кортизола и 5 больных с ГНА. В группу прооперированных больных без ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss входили 7 больных с неполным подавлением кортизола в сыворотке крови после ПДТ1 и 8 больных с ГНА.

Размер опухолей прооперированных больных со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss составил 4,2 (2,3–5,1) см, а размер опухоли больных без ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss был 4,0 (3,2–4,7) см. НП образований коры надпочечников у больных без ЗП была 20 (10–40) НУ, а у больных со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss была 10,0 (3,5–25,3) НУ. Размер и НП образований коры надпочечников не отличались в сравниваемых группах.

Результаты стандартных классических методов обследования у больных обеих групп не отличались. По данным ГХ-МС у больных со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss по сравнению с больными без ЗП была повышена суточная экскреция андрогенов (дегидроэпиандростерон, андростендиол-17 β), метаболитов прогестинов (прегнантриол, 11-оксо-прегнантриол, прегнендиол), глюкокортикоидов (ТНС и ТНВ) с мочой (рис. 4).

Различие стероидных профилей мочи у больных с ЗП 1–3 балла и без ЗП 1–3 балла шкалы L.M. Weiss, было продемонстрировано с помощью графика метода главных компонент (рис. 5). При построении графика были использованы суточные экскреции 17 метаболитов кортикостероидов с мочой, полученные методом ГХ-МС: андростерон, этиохоланолон, 11-оксо-этиохоланолон, 11-гидроксиандростерон, 11-гидроксиэтиохоланолон, 17-гидроксипрегнанолон, андростендиол-17 β , дегидроэпиандростерон, 16 α -дегидроэпиандростерон, 16 β -дегидроэпиандростерон, андростендиол, прегнандиол, прегнантриол, прегнендиол, 3 β ,17,20-прегнендиол, 3 β ,16,20-прегнендиол и ТНС.

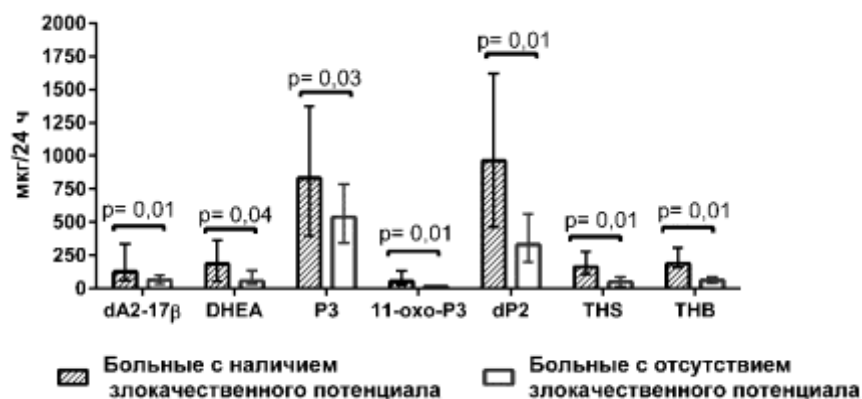


Рисунок 4 — Суточная экскреция метаболитов стероидов с мочой, полученная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у прооперированных больных со злокачественным потенциалом 1–3 балла по шкале L.M. Weiss и у прооперированных больных без злокачественного потенциала по результатам гистологического исследования

Примечание: dA2-17β – андростендиол-17β, DHEA – дегидроэпиандростерон, P3 – прегнантриол, 11-охо-P3 – 11-оксо-прегнантриол, dP2 – прегнендиол, TMS – тетрагидро-11-дезоксикортизол, THB – тетрагидрокортикостерон

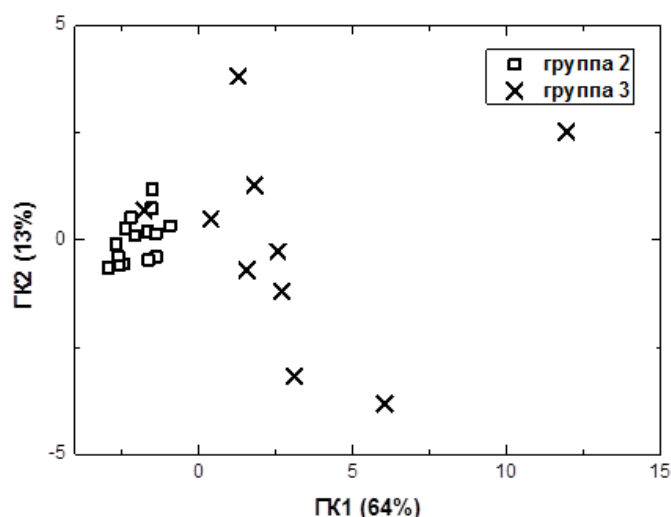


Рисунок 5 — График метода главных компонент у прооперированных больных с наличием и отсутствием злокачественного потенциала по шкале L.M. Weiss

Примечание: ГК – главный компонент; группа 2 – больные без ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss; группа 3 – больные со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss.

У прооперированных больных со ЗП 1–3 балла по шкале L. M. Weiss методом ГХ-МС была обнаружена суточная экскреция неклассических 5-ene-прегненов: 16-ОН-прегненолона, 21-ОН-прегненолона, 11-ОН-прегнентриола, 3β,17,20-прегнентриола, 3β,16,20-прегнентриола, которые не были выявлены у больных без ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss, и у здоровых людей. Данные соединения можно рассматривать, как факторы риска злокачественного процесса у больных с ИН.

Несмотря на современное представление патогенеза аденом надпочечников, выявленных случайно при проведении визуализирующих методов обследования, основанное на отсутствии вероятности их малигнизации (Cawood T.J. et al., 2009; Cho Y.Y. et al., 2013; Fassnacht M. et al., 2016; Song J.H. et al., 2008; Terzolo M. et al., 2011; Vassilatou E. et al., 2009), по мнению ряда исследователей, гипотеза о малигнизации аденом надпочечников может иметь место в отдельных редких случаях (Belmihoub I. et al., 2017; Drelon C. et al., 2012; Heaton J.H. et al., 2012; Ozsari L. et al., 2016; Pohlink C. et al., 2004). В проведенном нами

исследовании полученные СПМ у больных со ЗП 1–3 балла по шкале L.M. Weiss, характерные для АКР, могут быть ранними признаками злокачественности образований коры надпочечников и играть определенную роль в решении вопроса об оперативном лечении больных с ИН.

Признаки гормональной активности (на основании повышения уровней кортикостероидов и минералокортикоидов) были выявлены у 62 (65,3%) обследованных больных с ИН (37 больных с ГНА без ожирения и 25 больных с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после ПДТ1) путем комплексного использования методов иммуноанализа, ВЭЖХ и ГХ-МС, а при использовании только методов иммуноанализа — у 25 (26,3%) обследованных больных с ИН (25 больных с неполным подавлением уровня кортизола после ПДТ1).

ВЫВОДЫ

1. У 33 (34,7%) больных с гормонально-неактивными аденомами надпочечников и ожирением методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии было выявлено повышение уровня кортикостерона и снижение содержания 11-дегидрокортикостерона в крови, увеличение соотношений биологически активных глюкокортикоидов к менее активным их метаболитам в крови и моче, что может свидетельствовать о частичном дефиците фермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа. Увеличение соотношения 6 β -гидроксикортизола к свободному кортизолу мочи указывает на повышение активности изофермента цитохром P450 3A4.
2. У 37 (38,9%) пациентов с гормонально-неактивными аденомами без ожирения, с полным подавлением кортизола в крови после пробы с 1 мг дексаметазона, со сниженным содержанием ренина в сыворотке крови было обнаружено увеличение содержания минералокортикоидов в крови и экскреции с суточной мочой метаболитов кортикостерона хроматографическими методами исследования.
3. У 25 (26,3%) больных с образованиями надпочечников с неполным подавлением кортизола в сыворотке крови после пробы с 1 мг дексаметазона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было выявлено увеличение биологически активных глюкокортикоидов в крови, свободного кортизола и кортизона с мочой, методом газовой хромато-масс-спектрометрии — повышение экскреции с мочой 5 β -тетрагидрометаболитов глюкокортикоидов и кортизолов, что подтверждает наличие автономного гиперкортизолизма.
4. Признаки повышения гормональной активности выявлены у 62 (65,3%) обследованных больных с инциденталомиями коры надпочечников путем комплексного использования методов иммунохимического анализа, высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии, а при использовании только методов иммуноанализа — у 25 (26,3%) обследованных.
5. Методом газовой хромато-масс-спектрометрии у 10 (10,5 %) больных с аденомой коры надпочечников и злокачественным потенциалом 1–3 балла по шкале L.M. Weiss установлено увеличение экскреции дегидроэпиандростерона, 17 β -андростендиола, тетрагидро-11-дезоксикортизола, метаболитов прогестиннов с мочой и определены неклассические 5-энепрегнены, отсутствующие у больных с аденомой надпочечников без злокачественного потенциала, а также показано различие стероидных профилей мочи у данных групп больных графиком метода главных компонент.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных с гормонально-неактивными аденомами и с частичными признаками дефицита 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа рекомендуется определение уровней кортикостероидов в сыворотке крови и экскреции свободных кортикостероидов с суточной мочой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при прогрессировании эндогенного гиперкортизолизма.
2. Больные с инциденталомиями надпочечников, с низким ренином сыворотки крови и с повышенными уровнями предшественников альдостерона требуют определения альдостерон-ренинового соотношения в динамике при появлении или прогрессировании артериальной гипертензии для выявления первичного гиперальдостеронизма.
3. Больным с инциденталомиями коры надпочечников с неполным подавлением уровня кортизола в сыворотке крови после пробы с 1 мг дексаметазона, со сниженным уровнем кортикотропина плазмы крови и с повышенным уровнем свободного кортизола слюны рекомендовано определение уровней кортикостероидов в крови и экскреции глюкокортикоидов и их метаболитов с мочой методами хроматографии с целью подтверждения гиперпродукции активных глюкокортикоидов и минералокортикоидов опухолью надпочечников.
4. У больных с инциденталомиями коры надпочечников необходимо учитывать повышение суточной экскреции с мочой андростендиола-17 β , дегидроэпиандростерона, прегнантриола, прегнендиола, тетрагидро-11-дезоксикортизола и неклассических 5-ene-прегненов методом газовой хромато-масс-спектрометрии в связи с риском наличия злокачественного процесса.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшим этапом усовершенствования хроматографических методов исследования является внедрение жидкостной хромато-масс-спектрометрии для определения стероидных гормонов в крови. Данный метод обладает более высокой чувствительностью и точностью определения стероидных гормонов коры надпочечников в сравнении с ВЭЖХ и, в отличие от ГХ-МС, не требует затратного по времени и труду процессов гидролиза и дериватизации. Использование хроматографических методов исследования для определения стероидных гормонов в биологических жидкостях позволит выявлять нарушения адrenaльного стероидогенеза и метаболизма стероидных гормонов у больных с различными заболеваниями коры надпочечников на ранних этапах заболевания при отсутствии клинических признаков, что будет способствовать улучшению лабораторной диагностики и результатов лечения, а также выявлению дополнительных факторов риска злокачественного процесса.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Великанова, Л.И. Диагностическое значение стероидных профилей у больных с инциденталомиями коры надпочечников / Л.И. Великанова, З.Р. Шафигуллина, Н.В. Ворохобина, А.А. Лисицын, К. Григорян, Е.Г. Стрельникова, Е.В. Обьедкова // VII Всероссийский диабетологический конгресс. Сборник тезисов – М., 2015. – С. 343.
2. Великанова, Л.И. Дифференциальная диагностика инциденталом коры надпочечников различными лабораторными технологиями / Л.И. Великанова, З.Р. Шафигуллина, Н.В. Ворохобина, К. Григорян, А.А. Лисицын, Е.В. Обьедкова // Вестник СЗГМУ – 2015. – Т.7, –№4. – С. 52-58.

3. Великанова, Л.И. Дифференциальная диагностика опухолей коры надпочечников с использованием методов хроматографии / Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина, З.Р. Шафигуллина, К. Григорян, Е.А. Кухианидзе, Е.Г. Стрельникова // Всероссийская конференция с международным участием «Командный подход в современной эндокринологии». Сборник тезисов. – СПб., 2016. – С.26.
4. Великанова, Л.И. Использование хроматографических методов исследования стероидных профилей в сложных диагностических ситуациях при опухолях надпочечников / Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина, З.Р. Шафигуллина, К. Григорян, Е.А. Кухианидзе, Е.Г. Стрельникова // Юбилейная научная сессия «От трансляционных исследований — к инновациям в медицине». Сборник тезисов. – СПб., 2015. – С. 18.
5. Великанова, Л.И. Исследование стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии у больных с инциденталомиями коры надпочечников для выявления злокачественного потенциала в дооперационном периоде / Л.И. Великанова, З.Р. Шафигуллина, Е.Г. Стрельникова, К. Григорян, В.А. Литвиненко // Конгресс «Эндокринология Северо-Запада России». Сборник тезисов. – СПб., 2015. – С. 7-8.
6. **Великанова, Л.И. Получение стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии у больных с инциденталомией надпочечников / Л.И. Великанова, Е.Г. Стрельникова, Е.В. Обьедкова, Н.С. Кривохижина, З.Р. Шафигуллина, К. Григорян, В.Г. Поваров, А.Л. Москвин. // Журнал аналитической химии. – 2016. –Т. 71, – №. 7. – С. 775-781.**
7. Ворохобина, Н.В. Тактика лечения больных с инциденталомиями надпочечников / Н.В. Ворохобина, Л.И. Великанова, К. Григорян, З.Р. Шафигуллина // IV Всероссийский ежегодный конгресс «Балтийский форум». Сборник тезисов. – СПб., 2015. – С.9.
8. Григорян, К. Значение газовой хромато-масс-спектрометрии в дифференциальной диагностике инциденталомии коры надпочечников / К. Григорян, З.Р. Шафигуллина, Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина // Всероссийский конгресс эндокринологов. Сборник материалов конференции. М., 2016. – С. 40.
9. Григорян, К. Обследование больных с инциденталомиями надпочечников различными лабораторными технологиями / К. Григорян, Н.В. Ворохобина, Л.И. Великанова. // 3-я научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике». Сборник тезисов. – г. СПб., 2015. – С. 274-275.
10. Григорян, К. Основные признаки адренокортикального рака у больных с инциденталомиями коры надпочечников по данным газовой хромато-масс-спектрометрии / К. Григорян, Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина // 4-я научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике». Сборник тезисов. – СПб., 2016. – С.32-34.
11. Григорян, К. Особенности стероидогенеза у больных с автономной гиперсекрецией кортизола, полученные методом газовой хромато-масс-спектрометрии / К. Григорян, Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина // 5-я научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике». Сборник тезисов. – СПб., 2017. – С. 30-31.

12. Григорян, К. Сочетание классических тестов и высокоэффективной жидкостной хроматографии кортикостероидов в диагностике субклинического синдрома Кушинга / К. Григорян, З.Р. Шафигуллина, Е.А. Кухианидзе, Н.В. Ворохобина, Л.И. Великанова, С.Б. Шустов, А.В. Кузнецова // Вестник Российской Военно-медицинской академии – 2017 – Т.57, – №.1. – С.7-11.
13. Шафигуллина, З.Р. Особенности диагностики субклинического Синдрома Иценко-Кушинга различными лабораторными технологиями/ З.Р. Шафигуллина, Л.И. Великанова, Н.В. Ворохобина, К. Григорян, Е.В. Обедкова, М.А. Иванушко // Конгресс «Эндокринология Северо-Запада Россия-2015». Сборник тезисов. – СПб., 2015. – С. 47-48.
14. Grigoryan, K. Diagnostic particularities of hormonal non-active adenomas / K. Grigoryan, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina // 60th Congress of the German Society of Endocrinology. Congress abstracts – Wuerzburg., – 2017. P104-05.
15. Grigoryan, K. Diagnostic particularities of subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenocortical incidentalomas / K. Grigoryan, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina // «D.A.CH. Tagung 2016» (D•A•CH-Tagung der DGE, ÖGES und SGED). Congress abstracts – Munich., 2016.
16. Grigoryan, K. Examination and management tactics of patients with adrenal incidentaloma / K. Grigoryan, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina // 58th Symposium of the German Society of Endocrinology. Congress abstracts – Luebeck., 2015. – 123 - LB_04 DOI: 10.1055/s-0035-1549070.
17. Shafigullina, Z.R. Changes in urinary steroid profiling in patients with adrenal tumours. / Z.R. Shafigullina, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina, S.B. Shustov, A.A. Lisitsin, M.A. Ivanushko, K. Grigoryan, E.A. Kukhianidze, E.G. Strelnikova // Conference «Ens@t 2016 Birmingham». Conference abstracts. – Birmingham., – 2016. – P.55.
18. Shafigullina, Z.R. Urinary steroid profiling in the diagnostic of adrenal cancer. / Z.R. Shafigullina, L.I. Velikanova, N.V. Vorokhobina, S.B. Shustov, A.A. Lisitsin, M.A. Ivanushko, K. Grigoryan, E.A. Kukhianidze, E.G. Strelnikova, N.K. Krivokhizhina // Conference «Oncology and Radiology ICOR2016». Conference abstracts – Dubai., 2016.
19. **Velikanova, L.I. Different types of urinary steroid profiling obtained by high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry in patients with adrenocortical carcinoma / L.I. Velikanova, Z.R. Shafigullina, A.A. Lisitsin, N.V. Vorokhobina, K. Grigoryan, E.A. Kukhianidze, E.G. Strelnikova, N.K. Krivokhizhina, L.M. Krasnov, E.A. Fedorov, I.V. Sablin, A.L. Moskvina, E.A. Bessonova // – HORM CANC. – 2016 – Vol.5, – №7. – P. 327-335.**
20. Velikanova, L.I. Generation of urinary steroid profiling in patients with adrenal tumors using gas-chromatography mass-spectrometry / L.I. Velikanova, E.G. Strel'nikova, E.V. Obedkova, N.S. Krivokhizhina, Z.R. Shafigullina, K. Grigoryan, V.G. Povarov, A.L. Moskvina // Journal of Analytical Chemistry – 2016. – Vol. 71, – No. 7. – P. 748-754.
21. Velikanova, L.I. Generation of urinary steroid profiling in patients with adrenal tumors using gas-chromatography mass-spectrometry/ L.I. Velikanova, Z.R. Shafigullina, N.V. Vorokhobina, E.G. Strelnikova, K. Grigoryan, S.B. Shustov, N.K. Krivokhizhina // Conference «Applied Chemistry». Conference abstracts – Houston.,–2016. – P.47.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

11 β -ГСДГ 2 – 11 β -гидроксистероиддегидрогеназа 2 типа
АГ – артериальная гипертензия
АКА – адренокортикальная аденома
АКР – адренокортикальный рак
АКТГ – адренокортикотропный гормон
АРС – альдостерон-рениновое соотношение
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ГНА – гормонально-неактивная аденома
ГХ-МС – газовая хромато-масс-спектрометрия
Ж – женщины
ЖХ-МС – жидкостная хромато-масс-спектрометрия
ЗП – злокачественный потенциал
ИМТ – индекс массы тела
ИН – инциденталомы надпочечников
КТ – компьютерная томография
М – мужчины
НИЛ – научно-исследовательская лаборатория
НП – нативная плотность
ПГА – первичный гиперальдостеронизм
ПДТ – подавляющий дексаметазоновый тест
СКС – свободный кортизол слюны
СПМ – стероидные профили мочи
УЗИ – ультразвуковое исследование
18-ОНВ – 18-гидроксикортикостерон
6 β -ОНФ – 6 β -гидроксикортизол
А – 11-дегидрокортикостерон
APW – абсолютный процент вымывания
В – кортикостерон
СУР450 – цитохром Р 450
Е – кортизон
F – кортизол
НУ – единицы Хаусфильда
Q₂₅-Q₇₅ – 25-й перцентиль – 75-й перцентиль
ТНА – тетрагидро-11-дегидрокортикостерон
ТНВ – тетрагидрокортикостерон
ТНЕ – тетрагидрокортизон
ТНС – тетрагидро-11-дезоксикортизол
ТНФ – тетрагидрокортизол
U18-ОНВ – 18-гидроксикортикостерон
UFE – свободный кортизон мочи
UFF – свободный кортизол мочи