

ШЕВЭ АНАСТАСИЯ ЛЮДМИЛА

**СИНДРОМ КУШИНГА ПРИ МАКРОНОДУЛЯРНОЙ ДВУСТОРОННЕЙ
ГИПЕРПЛАЗИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ: ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
ОДНОСТОРОННЕЙ АДРЕНАЛЭКТОМИИ И ИММУННО-
ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ АБЕРРАНТНЫХ И
ЭУТОПИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ**

3.1.19. Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

МОСКВА

2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: **Бельцевич Дмитрий Германович**
доктор медицинских наук, профессор РАН

Официальные оппоненты: **Волкова Наталья Ивановна**
доктор медицинских наук, профессор, заведующая
кафедрой внутренних болезней №3 Федерального
государственного бюджетного учреждения высшего
образования «Ростовский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

Животов Владимир Анатольевич
кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии с
курсом хирургической эндокринологии Института
усовершенствования врачей Федерального
государственного бюджетного учреждения
«Национальный медико-хирургический Центр имени
Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»

Защита диссертации состоится «30» ноября 2023 года, в ____ часов на заседании
диссертационного совета 21.1.045.01 в ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г.
Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д.11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ
эндокринологии» Минздрава России или на сайте www.endocrincentr.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В последние годы отмечается увеличение частоты выявления опухолей надпочечников, в первую очередь, обусловленное применением современной лабораторно-инструментальной диагностики, а также эпидемиологической ситуацией последних лет.

Макронодулярная двусторонняя гиперплазия надпочечников (МДГН) – это редкая форма доброкачественного поражения надпочечников, характеризующаяся двусторонним выраженным увеличением надпочечников в результате наличия конгломератов, состоящих из множественных узлов, размер которых превышает 1 см, и приводит приблизительно в половине случаев к избыточной продукции кортизола. В настоящее время данное заболевание рассматривается как гетерогенная патология с различными клиническими, гормональными и радиологическими характеристиками. В большинстве случаев МДГН является случайной находкой при визуализирующих исследованиях и нередко сопровождается функционально-автономной продукцией кортизола (ФАПК). Неспецифическая, стертая клиническая картина и медленное многолетнее прогрессирование приводит к несвоевременной диагностике МДГН. Отсутствие нормализации уровня кортизола влечет за собой неэффективность проводимой симптоматической терапии и, как следствие, прогрессирование коморбидных состояний [Terzolo et al., 2005], [Morelli et al., 2010]. Социальная значимость данной патологии связана с тем, что значительная часть гормонально-активных образований встречается у работоспособной части населения и сопровождается развитием тяжелой артериальной гипертензии (АГ), метаболических нарушений, сопряженных с высоким риском развития тяжелых сердечно-сосудистых осложнений (ССО), инвалидизации и преждевременной смерти [Terzolo et al., 1997], [Tauchmanova et al., 2002].

В настоящее время не выработана единая тактика ведения пациентов с МДГН в связи с ограниченными данными имеющихся исследований. Вследствие двустороннего надпочечникового поражения длительное время единственным эффективным способом лечения манифестного СК при МДГН считалась двусторонняя тотальная адреналэктомия. В 2015 г. Debillion и соавт. опубликовали результаты 5-летнего наблюдения пациентов после односторонней адреналэктомии (ОА), свидетельствовавшие о высокой эффективности односторонней операции. Несмотря на сохранение гиперпластического процесса с контрлатеральной стороны, у 40% пациентов в послеоперационном периоде наблюдались клинические признаки надпочечниковой недостаточности (НН). По данным лабораторных исследований в динамике в ходе 5-летнего наблюдения у всех пациентов в этой выборке сохранялся стойкий эуортицизм [Debillion et al., 2015].

Однако, с накоплением данных выявлено, что эффективность одностороннего оперативного вмешательства при МДГН, сопровождающейся СК, не столь высока, как

заявлялось в пилотном исследовании [Osswald et al., 2019], [Sheikh-Ahmad et al., 2019], [Xu et al., 2013]. Ввиду немногочисленности таких исследований и небольшой выборки пациентов было бы актуальным определить эффективность хирургического вмешательства на более широкой группе больных. Более того, на данный момент не определена тактика ведения больных с МДГН в послеоперационном периоде после ОА. Остается актуальным вопрос заместительной терапии ГКС: определения группы больных, требующих ее назначения, а также исследование возможных предикторов послеоперационной НН.

В начале 1990-х годов впервые была обнаружена экспрессия аберрантных рецепторов в узловых образованиях надпочечников [Lacroix et al., 1992]. Данное открытие предоставляло новую возможность лечения, а именно назначение патогенетической терапии. Результатом данных работ явился новый этап в диагностике и лечении больных с МДГН, в частности, проведение многочисленных дооперационных стимуляционных проб с последующим подбором медикаментозной терапии [Юкина и соавт., 2016]. Однако реальная практика продемонстрировала ряд сложностей, связанных с трудоемкостью тестов, ошибками в ходе их выполнения, правильностью интерпретации результатов, дороговизной исследования, а также ускользанием эффекта лечения у большей части пациентов, что требовало в последствии проведения оперативного вмешательства [Ferri et al., 2020]. Наряду с этим, проведение ОА предоставляет непосредственный доступ к гистологическому материалу, который дает возможность проведения более точных исследований рецепторного статуса узловых образований при выполнении иммуногистохимического исследования (ИГХ). В настоящий момент требуется накопление данных о клинической значимости и финансовой целесообразности альтернативных методов диагностики и лечения МДГН.

Таким образом, необходимо совершенствование алгоритмов диагностики и лечения МДГН, проведение оценки результатов оперативного лечения (на данный момент единственного и наиболее эффективного способа лечения манифестных форм СК), рецепторных и биохимических предикторов течения заболевания.

Цель работы

Разработать оптимальный алгоритм ведения пациентов с МДГН.

Задачи исследования

1. Оценка эффективности ОА у пациентов с гиперкортицизмом при МДГН:
 - определение времени безрецидивной выживаемости после ОА.
 - определение cut-off уровня кортизола крови (8:00 – 9:00) в течение первых суток после ОА, как предиктора развития НН в послеоперационном периоде у пациентов с МДГН;
 - оценка предикторов персистенции СК.
2. Изучить возможность выявления гиперэкспрессии эутопических и/или наличия аберрантных рецепторов методом ИГХ в послеоперационном материале в сравнении с группой контроля.
3. На основании полученных результатов, определить возможность использования медикаментозной коррекции при рецидиве гиперкортицизма при МДГН.

Научная новизна

1. Впервые в РФ проведена оценка эффективности ОА у больных с МДГН.
2. Впервые изучена возможность и отработана методика выявления экспрессии эутопических и аберрантных рецепторов методом ИГХ в послеоперационном материале у пациентов с МДГН.
3. Впервые выявлена множественная рецепторная экспрессия ИГХ-методом при МДГН.
4. Впервые произведена оценка уровня кортизола крови (8:00 – 9:00) на первые сутки после ОА, как предиктора развития НН в послеоперационном периоде у пациентов с СК при МДГН.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Рекомендовано проведение односторонней адреналэктомии у больных с МДГН с последующим динамическим наблюдением пациента
2. В результате построения ROC-кривой уровень кортизола крови менее 325 нмоль/л, определенный на 1-е сутки после ОА, предложен в качестве предиктора развития НН в послеоперационном периоде у пациентов с МДГН.
3. Предложен алгоритм лечения и послеоперационного ведения пациентов с МДГН.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор работы принимал непосредственное участие в работе с пациентами, подготовке и проведении клинических и лабораторных, ИГХ исследований, подготовке публикаций и докладов по теме работы. Основной объем статистической обработки данных и интерпретаций полученных результатов выполнены лично автором.

Положения, выносимые на защиту

1. Односторонняя адреналэктомия высокоэффективна в качестве первого этапа лечения СК при МДГН, так как позволяет достигнуть длительную биохимическую ремиссию заболевания.
2. Уровень кортизола в раннем послеоперационном периоде менее 325 нмоль/л, обладает высокой прогностической ценностью в отношении развития НН.
3. Одним из главных патогенетических звеньев развития МДГН является экспрессия значимого количества нелегитимных рецепторов. Вопрос об эффективности таргетной терапии СК после ОА при МДГН должен быть дополнительно исследован с точки зрения полученных результатов о мультирецепторной экспрессии.

Апробация работы

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 21.02.2023 на расширенном заседании межотделенческой научной конференции ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России.

Результаты работы представлены на научных конференциях: Конференции по онкоэндокринологии и аутоиммунным эндокринологическим заболеваниям (Москва, 2022г.); X (XXIX) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва,

2023); в виде тезиса и электронного постера – The Endocrine society's ENDO 2021 (Сан Франциско, 2020г).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, описание материалов и методов проведения исследования, собственные результаты и их обсуждение, заключение), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Библиография включает 236 источников (из них 2 отечественных и 234 зарубежных). Работа иллюстрирована 18 таблицами, 38 рисунками и 1 графиком.

По теме диссертации всего опубликовано 6 печатных работ, в том числе в рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России медицинских журналах – 2; тезисы, опубликованные за рубежом – 1.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с поставленными целями и задачами в исследование было включено 110 человек с диагнозом МДГН (таб.1). Для включения в исследование рассматривались пациенты старше 18 лет, мужского и женского пола. Все участники исследования проходили обследование или обращались за медицинской консультацией в ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава РФ в период 2014–2022 гг.

Всем пациентам выполнена топическая диагностика, включающая КТ надпочечников, как правило, без контрастного усиления. Измерение каждого узлового образования надпочечника осуществлялось не менее чем в трех сечениях (длина, ширина и высота). Расчет объема опухолевой ткани осуществлялся по формуле для нахождения объема сфер ($V_{сф} = 4/3 \pi r^3$). Для образований по типу эллипсоида, расчет объема проводился по формуле $V_{элл} = 4/3 \pi abc$, где a , b , c это полуоси эллипсоида. Общий объем узлового поражения надпочечников высчитывался путем сложения объемов всех узловых образований с обеих сторон. Конгломератные образования надпочечников – объем оценивался по максимальным суммарным размерам.

Всем пациентам проведено гормональное обследование, включающее определение кортизола в ходе ночного подавляющего дексаметазонового теста (ПДТ1), уровня АКТГ, свободного кортизола суточной мочи (СКМ). Исключалась возможная другая/сочетанная гормональная активность.

Для оценки тяжести течения сопутствующих заболеваний/осложнений СК, пациентам измерялся ИМТ, проводилась оценка наличия/отсутствия АГ и остеопороза. При наличии у пациента нецелевых показателей глюкозы плазмы крови натощак ($> 6,1$ ммоль/л), для исключения наличия нарушений углеводного обмена проводился оральный глюкозотолерантный тест. Всем пациентам ($n = 47$) с установленным диагнозом СД определялся гликированный гемоглобин (HbA1c).

Таблица 1 – Характеристика пациентов с МДГН (n = 110)

Признак		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)
Мужской пол		110	23 (20,9%)
Возраст (лет)		110	60 [51; 68]
ИМТ (кг/м ²)		104	30,0 [26,0; 34,0]
Объем (см ³)		110	20,8 [9,0; 37,0]
Кортизол после ПДТ1 (нмоль/л)		110	173,8 [86,0; 441,0]
АКТГ (пг/мл)		110	3,35 [1,00; 8,00]
АКТГ	АКТГ < 1 пг/мл	110	30 (27,3%)
	АКТГ 1,1–5 пг/мл		37 (33,6%)
	АКТГ 5,1–7,2 пг/мл		11 (10,0%)
	АКТГ > 7,3 пг/мл		32 (29,1%)
СКМ (нмоль/сут)		98	445,5 [249,0; 900,0]
Клинические проявления манифестного СК		110	31 (28,2%)
HbA1c (%)		64	6,6 [5,8; 7,7]
СД		110	45 (40,9%)
Количество сахароснижающих препаратов	0	45	22 (48,8%)
	1		19 (42,2%)
	2		12 (26,6%)
	3		5 (11,1%)
Инсулины		45	7 (15,5%)
АГ		110	95 (86,4%)
Стадия АГ	1	95	2 (2,1%)
	2		71 (74,7%)
	3		22 (23,2%)
Степень АГ	1	95	11 (11,6%)
	2		63 (66,3%)
	3		21 (22,1%)
Количество антигипертензивных препаратов		95	3 [1; 3]
Остеопороз		82	16 (19,5%)

Среди 110 пациентов с установленным диагнозом МДГН, у 51 пациента были выявлены показания к хирургическому лечению.

Показания к хирургическому лечению были сформулированы следующим образом:

1. СК с бессимптомным течением:

- при отсутствии подавления кортизола в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (> 50 нмоль/л) и/или повышение СКМ > 413 нмоль/сут;
- при сниженном уровне АКТГ (< 1 пг/мл).

2. Манифестная форма СК:

- отсутствие подавления кортизола в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (> 50 нмоль/л) и/или повышение СКМ > 413 нмоль/сут;
- сниженный уровень АКТГ (< 5 пг/мл);
- наличие «больших признаков гиперкортицизма».

3. Функционально автономная продукция кортизола (ФАПК) с выраженными коморбидными состояниями:

- отсутствие подавления кортизола в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (> 50 нмоль/л) и/или повышение СКМ > 413 нмоль/сут;
- сниженный уровень АКТГ (< 5 пг/мл);
- наличие/прогрессирование неспецифических проявлений – АГ, СД, ожирения, остеопороз.

В условиях комбинированной анестезии всем пациентам ($n = 44$) проводилась односторонняя эндоскопическая адреналэктомия боковым трансабдоминальным или ретроперитонеальным доступом. Учитывая тот факт, что размер поражения надпочечника по данным большинства исследователей практически всегда коррелирует со степенью избытка кортизола, производилось удаление доминирующего по размеру надпочечника.

Ремиссия СК устанавливалась при условии:

- 1) нормализации уровня СКМ и/или подавлении кортизола в ходе ПДТ1 и/или нормализации показателя утреннего АКТГ (8:00);
- 2) регресса клинических симптомов гиперкортицизма при манифестной форме СК;
- 3) развития клинических признаков НН (стойкая гипотония, выраженная слабость, гипогликемия, анорексия, тошнота, рвота и др.);
- 4) улучшения течения коморбидных заболеваний, ассоциированных с СК

Обязательным критерием установки ремиссии являлась нормализация показателей кортизола/АКТГ и/или регресс клинических проявлений СК (пункты 1, 2). Пункты 3 и 4 являлись дополнительными, так как развитие НН лишь предвещает благоприятный прогноз лечения, однако, отсутствие НН не свидетельствует о персистенции заболевания, а течение коморбидных состояний могут лишь косвенно зависеть от СК.

Рецидив устанавливался при возобновлении СК после ремиссии:

- 1) отсутствие подавления в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (> 50 нмоль/л);
- 2) повышение СКМ > 413 нмоль/сут;
- 3) сниженный уровень АКТГ (< 5 пг/мл);
- 4) возврат клинической картины гиперкортицизма;
- 5) ухудшения течения коморбидных состояний, ассоциированных с СК.

Обязательным критерием установки рецидива являлось лабораторное подтверждение эндогенного гиперкортицизма СК (пункт 1–3). Пункты 4 и 5 использовались дополнительно, так как могли лишь косвенно свидетельствовать о рецидиве СК.

Динамическая оценка гормональных показателей (кортизол после ПДТ1, АКТГ, СКМ), тяжести течения коморбидных состояний проводилась каждые 6 месяцев после ОА. Период динамического наблюдения за пациентами после операции варьировал от 3 до 82 месяцев, медиана наблюдения 18 [12; 36] месяцев. При персистенции

заболевания или развитии рецидива гиперкортицизма, вторым этапом проводилась тотальная адреналэктомия (n = 5).

Все пациенты после ОА рассматривались как пациенты, подверженные высокому риску развития послеоперационной НН. С целью оценки предикторной значимости кортизола, взятого в промежутке с 8:00–9:00 последующего после ОА дня, заместительная терапия гидрокортизоном в течение первых суток не проводилась. Среди 44 пациентов после ОА, у 35 пациентов определен уровень утреннего кортизола крови. Остальные 9 пациентов были исключены из исследования в связи с развитием в раннем послеоперационном периоде клинических признаков НН до указанного времени, купированной в/в введением 100 мг гидрокортизона, с последующим переходом на пероральную заместительную терапию.

Иммуногистохимическое исследование.

Среди 44 прооперированных пациентов были отобраны 28 образцов тканей для ИГХ-анализа. Выбор ИГХ-маркеров обусловлен опубликованными в литературе данными. Были отобраны наиболее часто встречающиеся рецепторы (LH/hCGR, β 1-AR, β 2-AR, α 2A-AR, V1-AVPR, GIPR, 5-HT7R), также произведена оценка внутриадреналовая экспрессия АКТГ (табл. 2). В качестве группы контроля отобраны образцы неопухолевой ткани коры удаленных надпочечников у пациентов с феохромоцитомами (n=14).

Таблица 2 – Антитела, использованные в работе.

<i>Антитело</i>	<i>Клон</i>	<i>Характеристика</i>	<i>Фирма-производитель</i>	<i>Разведение</i>	<i>Положительный контроль</i>	<i>Отрицательный контроль</i>
Anti-AVPR1 antibody	ab116246	Козлиное/ поликлональное	Abcam	1:100	Передняя доля гипофиза	Лимфоидная ткань
Anti-5HT7 antibody	ab61823	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Мозжечок	Лимфоидная ткань
Anti-hCG receptors/ LHR antibody	ab125214	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Карцинома яичника	Лимфоидная ткань
Anti-ACTH antibody	ab74976	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Передняя доля гипофиза	Лимфоидная ткань
Anti-GIPR antibody	ab136266	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Поджелудочная железа	Лимфоидная ткань
Anti-beta 2 Adrenergic Receptor antibody	ab182136	Кроличье/ моноклональное	Abcam	1:250	Скелетная мышца	Лимфоидная ткань
Anti- beta 1 Adrenergic Receptor antibody	ab3442	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:250	Сердечная мышца	Лимфоидная ткань
Anti-alfa-2A Adrenergic Receptor antibody	SAB4500 548	Кроличье/ поликлональное	Sigma	1:100	Скелетная мышца	Лимфоидная ткань

Для каждого маркера степень экспрессии оценивалась полуколичественным методом с использованием 4-бальной шкалы (число клеток на 100 подсчитанных, при

подсчете не менее 1000 клеток): при условии отсутствия экспрессии в клетках узла данного маркера – 0 балл (–); число позитивных клеток от 1 до 33% – 1 балл (+); число позитивных клеток от 34 до 66% – 2 балла (++); число позитивных клеток от 66 до 100% – 3 балла (+++).

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ проведен в программном пакете Statistica 13 (Tibco, США) и с помощью языка программирования python. Описательная статистика количественных данных представлена медианами, первым и третьим квартилями в виде Me [Q1; Q3], категориальных – абсолютными и относительными частотами в виде n (%). Доверительные интервалы (ДИ) для частот рассчитаны методом Клоппера – Пирсона. Сравнение двух независимых групп для количественных данных выполнялось с помощью критерия Манна – Уитни (U-тест). Сравнение трёх независимых групп для количественных данных выполнялось с помощью критерия Краскела – Уоллиса с дальнейшим post-hoc анализом. Частоты бинарных признаков сравнивались между собой с помощью критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Корреляционный анализ выполнялся с помощью метода Спирмена. Для анализа времени до события использовали регрессионный анализ Кокса. Для нахождения отрезных точек с целью прогноза клинических исходов использовали ROC-анализ. Отрезные точки выбирались с помощью индекса Юдена. Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05. При множественных сравнениях применялась поправка Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости (P_0). Значения между P_0 и 0,05 обозначались как статистические тенденции. Статистический анализ результатов выполнялся в сотрудничестве с Елфимовой А. Р.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе представлены данные первичного обследования 110 пациентов, средний возраст которых составил 60 лет, соотношение женщин и мужчин ~ 5:1. В данной работе представлена госпитальная выборка пациентов с МДГН, что объясняет достаточно высокий показатель гормонально-активных форм МДГН среди представленной группы (62,7%), ФАПК выявлена у 41 пациента (37,3%), манифестный СК в 28 случаях (25,4%).

Проведен сравнительный анализ трех групп пациентов: пациенты с манифестным СК, пациенты с ФАПК и коморбидными заболеваниями (СД, АГ, ожирение, остеопороз) и пациенты с МДГН без гормональной активности (табл. 3). Статистически значимые различия обнаружены по возрасту, объему узловой ткани, уровню кортизола после ПДТ1, АКТГ и СКМ, частоты стадий АГ различались на уровне статистической тенденции ($p = 0,019$). Не выявлено статистически значимого различия в распространенности ассоциированных с СК заболеваний (СД, АГ, остеопороз), в равной степени показатель ИМТ не отличался среди вышеуказанных групп ($p = 0,56$).

Таблица 3 – Сравнительный анализ пациентов с различными клиническими проявлениями МДГН (n = 110).

Признак		Манифестный СК (группа 1)		ФАПК + коморбидности (группа 2)		МДГН без гормональной активности (группа 3)		p	p, post-hoc
		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)		
Мужской пол		28	4 (14,3)	41	9 (22,0)	41	10 (24,4)	0,586 ²	–
Возраст (лет)		28	51 [43; 62]	41	61 [53; 64]	41	63 [57; 70]	< 0,001 ¹	p ₁₋₂ = 0,015 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,311
ИМТ (кг/м ²)		28	29,9 [26,7; 33,0]	40	30,8 [26,9; 35,0]	36	28,0 [25,1; 33,9]	0,560 ²	–
Объем (см ³)		28	27,9 [14,3; 48,4]	41	24,6 [13,5; 40,5]	41	13,6 [5,6; 20,9]	< 0,001 ¹	p ₁₋₂ = 1,000 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,004
Кортизол после ПДТ1 (нмоль/л)		28	540,0 [295,0; 718,0]	41	192,0 [102,0; 490,0]	41	79,0 [54,0; 163,0]	< 0,001 ¹	p ₁₋₂ = 0,011 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001
АКТГ (пг/мл)		28	1,00 [0,01; 2,26]	41	2,10 [1,00; 3,30]	41	9,00 [7,50; 14,00]	< 0,001 ¹	p ₁₋₂ = 0,851 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001
СКМ (нмоль/сут)		27	816,0 [484,0; 1607,0]	39	452,0 [269,0; 900,0]	32	260,5 [179,6; 413,0]	< 0,001 ¹	p ₁₋₂ = 0,044 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,007
HbA1c (%)		16	6,0 [5,6; 6,8]	28	7,1 [5,9; 8,2]	20	6,5 [5,9; 7,6]	0,083 ²	–
СД		28	8 (28,6)	41	22 (53,7)	41	15 (36,6)	0,089 ²	–
Количество сахароснижаю- щих препаратов	0	16	9 (56,3)	23	8 (34,8)	19	5 (26,3)	0,408 ²	–
	1		3 (18,8)		9 (39,1)		7 (36,8)		
	2		3 (18,8)		3 (13,0)		6 (31,6)		
	3		1 (6,3)		3 (13,0)		1 (5,3)		
Инсулины		16	1 (6,3)	25	4 (16,0)	19	2 (10,5)	0,627 ²	–
АГ		28	27 (96,4)	41	36 (87,8)	41	32 (78,1)	0,087 ²	–
Стадия АГ	1	27	1 (3,7)	36	0 (0,0)	32	1 (3,1)	0,019 ³	–
	2		23 (85,2)		30 (83,3)		18 (56,3)		
	3		3 (11,1)		6 (16,7)		13 (40,6)		
Степень АГ	1	27	1 (3,7)	36	3 (8,3)	32	7 (21,9)	0,249 ²	–
	2		19 (70,4)		25 (69,4)		19 (59,4)		
	3		7 (25,9)		8 (22,2)		6 (18,8)		
Количество сердечных препаратов		27	3 [2; 3]	35	3 [1; 3]	33	2 [1; 3]	0,881 ²	–
Остеопороз		23	8 (35,8)	29	3 (10,3)	30	5 (16,7)	0,077 ²	–

Примечание – ¹ – критерий Краскелла – Уоллиса; ² – критерий χ^2 ; ³ – точный двусторонний критерий Фишера; поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/16 = 0,003$

Наибольшую трудность для определения показаний к хирургическому лечению имеют пациенты с ФАПК и коморбидными заболеваниями (АГ, СД, ожирение, нарушение минерально-костного обмена), которые имеют биохимические признаки гиперкортицизма (отрицательный ПДТ1, сниженный, но не супрессированный уровень

АКТГ, колеблющийся между 1 и 5 пг/мл), но при этом не сопровождающиеся развитием «больших признаков» гиперкортизма, т.е. имеющие, так называемую, субклиническую форму СК. Особой трудностью представляется оценка: насколько супрафизиологические уровни кортизола у данной группы влияют на течение сопутствующих заболеваний или является ли избыток кортизола первопричиной развития данных состояний. Более того, для определения необходимости оперативного вмешательства в группе пациентов с ФАПК, нельзя отталкиваться только от показателей лабораторного обследования, так как у части больных зафиксировано колебание уровня АКТГ в течение периода наблюдения, что свидетельствует о сохранном влиянии гипофиза в регуляции стероидогенеза. В нашем исследовании был проведен сравнительный анализ среди различных групп пациентов в зависимости от уровня АКТГ (группа 1 – АКТГ менее 1 пг/мл, группа 2 – 1,1–5 пг/мл, группа 3 – 5–7,2 пг/мл, группа 4 – более 7,3 пг/мл), статистически значимые различия обнаружены лишь по частоте клинических явлений СК. Другим важным наблюдением стало отсутствие ярких клинических проявлений СК в группе пациентов с АКТГ = 5,1–7,2 пг/мл. В группе пациентов с АКТГ < 1 пг/мл большая частота клинического Кушинга по сравнению с группой АКТГ > 7,3 пг/мл ($p_{1-3} = 0,018$, $p_{1-4} = 0,013$).

С целью нахождения взаимосвязей между объемом узловой ткани и гормональными показателями был проведен корреляционный анализ (таб.4).

Таблица 4 – Корреляционный анализ между объемом узловой ткани и гормональными показателями (n = 110)

Признак	N	R	p
Объем (см ³) & Кортизол после ПДТ1 (нмоль/л)	110	0,44	< 0,001
Объем (см ³) & АКТГ (пг/мл)	110	-0,40	< 0,001
Объем (см ³) & СКМ (нмоль/сут)	98	0,29	0,004
<i>Примечание – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/3 = 0,017$</i>			

В результате корреляционного анализа были получены данные, свидетельствующие о том, что увеличение объема узловой ткани МДГН, приводит к усилению стероидогенеза, более значительную супрессию АКТГ, и, как следствие, ухудшению течения СК.

Результаты односторонней адреналэктомии у пациентов с гиперкортицизмом при МДГН.

В условиях хирургического отделения ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» проведено 44 ОА. Среди прооперированных пациентов у 21 диагностирована манифестная форма СК, соответственно, у 23 пациентов имелась ФАПК с коморбидными состояниями. Ремиссия наблюдалась у 40/44 (91%; 95%-й ДИ 78–97%) пациентов.

С целью оценки эффективности оперативного лечения, проведен анализ не только гормональных показателей до и после ОА, но также произведена оценка изменений в углеводном обмене, оценен эффект лечения на ИМТ и течение АГ (табл.5).

Таблица 5 – Сравнительный анализ пациентов до и после операции (n = 44)

Признак	До операции		Через 6 месяцев после операции		p
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃]	N	Me [Q ₁ ; Q ₃]	
ИМТ (кг/м ²)	44	30,8 [27,5; 34,4]	44	28,5 [23,9; 32,2]	< 0,001¹
Кортизол после ПДТ1 (нмоль/л)	16	466 [173; 652]	16	86 [61; 149]	< 0,001¹
СКМ (нмоль/сут)	22	840 [468; 1892]	22	267 [204; 432]	< 0,001¹
АКТГ (пг/мл)	30	1 [1; 2,1]	30	8,3 [2,6; 15,0]	< 0,001¹
HbA1c (%)	22	7,0 [6,3; 7,7]	22	6,0 [5,6; 6,7]	< 0,001¹
Количество получаемых СД препаратов	44	0 [0; 1]	44	0 [0; 1]	0,109 ¹
АГ	39	37 (95%)	39	27 (69%)	0,004²
<i>Примечание – 1 – критерий Вилкоксона; 2 – критерий Мак-Немара; поправка Бонферрони P₀ = 0,05/7 = 0,007</i>					

Анализ полученных данных показал, что у пациентов через 6 месяцев после операции статистически значимо изменились гормональные показатели: снизился уровень кортизола после ПДТ1 (до - 466 [173; 652], после - 86 [61; 149], p = <0,01), СКМ (до - 840 [468; 1892], после - 267 [204; 432], p = <0,01), в тоже время нормализовался показатель АКТГ (до - 1 [1; 2,1], после - 8,3 [2,6; 15,0] p = <0,01), что свидетельствует об эффективности ОА. Следующим этапом была оценка влияния оперативного вмешательства на течение сопутствующих патологий.

После операции наблюдалось значительное улучшение АД. Из 36 пациентов с АГ до операции антигипертензивные препараты были прекращены у 10 пациентов (27,7%) после ОА. Количество антигипертензивных препаратов было снижено у 16 из 36 пациентов (44,4%). Продолжение приема антигипертензивных препаратов в той же дозе потребовалось у 9 пациентов (25%).

Из 40 пациентов СД диагностирован до операции в 18 случаях. Улучшение углеводного обмена после операции наблюдалось у 16 из 18 пациентов (88,8%). Динамика снижения уровня гликированного гемоглобина составила в среднем 1% (HbA1c до - 7,0 [6,3; 7,7] после - 6,0 [5,6; 6,7] (p < 0,01)). Прием лекарств можно было прекратить полностью у 1 из 18 пациентов (5,5%), уменьшение количества сахароснижающих препаратов зафиксировано у 2 человек (11%). 4/18 пациентам проводилась базис-болюсная инсулинотерапия, среди данных больных, доза инсулина была снижена у 3 пациентов (16,6%), соответственно, у 1 (5,5%) была продолжена в том же объеме. Также наблюдается положительная динамика в уменьшении массы тела. ИМТ сни-зился с 30,8 [27,5; 34,4] до 28,5 [23,9; 32,2] (p < 0,01).

В послеоперационном периоде также проводилась оценка развития НН и длительность ремиссии. НН развилась у 26/44 (59%, 95%-й ДИ 43–74%) пациентов. Длительность НН составила 6 [3; 12] месяцев. Ремиссия развилась у 39/44 (88%, 95%-й

ДИ 78–97%) пациентов. ДИ для частоты рассчитан методом Клоппера – Пирсона, при этом длительность ремиссии составила 12 [8; 36] месяцев.

Невозможность проведения тривиальной диагностики НН (тест со стимуляцией 1–24 АКТГ, тест с гипогликемией) вызвана стойким подавлением АКТГ у пациентов с длительным течением СК. Данные диагностические тесты направлены на активацию рецепторов MCR2, однако, у пациента с послеоперационной НН нарушена секреция АКТГ, необходимого для стимуляции этих рецепторов, до тех пор, пока кортикотрофные клетки гипофиза не восстановятся после длительного подавления. Более того, не всем пациентам после ОА необходима заместительная терапия, вследствие этого, актуальным вопросом является поиск предикторов развития НН в послеоперационном периоде.

Нами впервые проведен поиск потенциальных факторов, оказывающих влияние на развитие и длительность НН в послеоперационном периоде. Результаты представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Сравнительный анализ групп с наличием и отсутствием НН (n = 44)

Признак	НН есть		НН нет		p, критерий Манна – Уитни
	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	
Объем остаточной ткани	26	4,0 [1,2; 19,8]	18	7,2 [5,1; 14,8]	0,676
Процент удаленной узловой ткани	26	70,2 [51,6; 94,3]	18	73,0 [62,4; 80,8]	0,543
Кортизол после ПДТ1 до операции (нмоль/л)	26	633 [300; 707]	18	424 [263; 639]	0,417
СКМ до операции (нмоль/сут)	25	760 [474; 1652]	18	1402 [505; 2134]	0,252
АКТГ до операции (пг/мл)	26	1,1 [0,0; 2,0]	18	1,0 [0,0; 2,8]	0,703
Уровень кортизола на 1-е сутки (нмоль/л)	17	189,4 [113,0; 220,0]	18	421,5 [325,0; 566,0]	< 0,001
Примечание – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/6 = 0,008$					

Результатом корреляционного анализа явилось отсутствие статистически значимых корреляций между дооперационными гормональными исследованиями (АКТГ, СКМ и кортизола в ходе ПДТ1), объемом остаточной ткани, процентом удаленной узловой ткани и НН, а также её длительностью.

В результате сравнительного анализа было показано, что уровень кортизола на 1-е сутки после операции статистически значимо ниже в группе с НН.

С целью оценки диагностической значимости уровня кортизола на 1-е сутки для прогнозирования развития НН в раннем послеоперационном периоде был проведен ROC-анализ. ROC-кривая представлена на Рисунке 1.

AUC = 0,961 (95%-й ДИ 0,894–1,000), что говорит о высокой диагностической эффективности уровня послеоперационного кортизола на 1-е сутки после операции. Согласно индексу Юдена, была выбрана отрезная точка равная 325 нмоль/л. Матрица классификации для данной отрезной точки представлена в Таблице 7.

Рисунок 1 – ROC-анализ уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики НН.

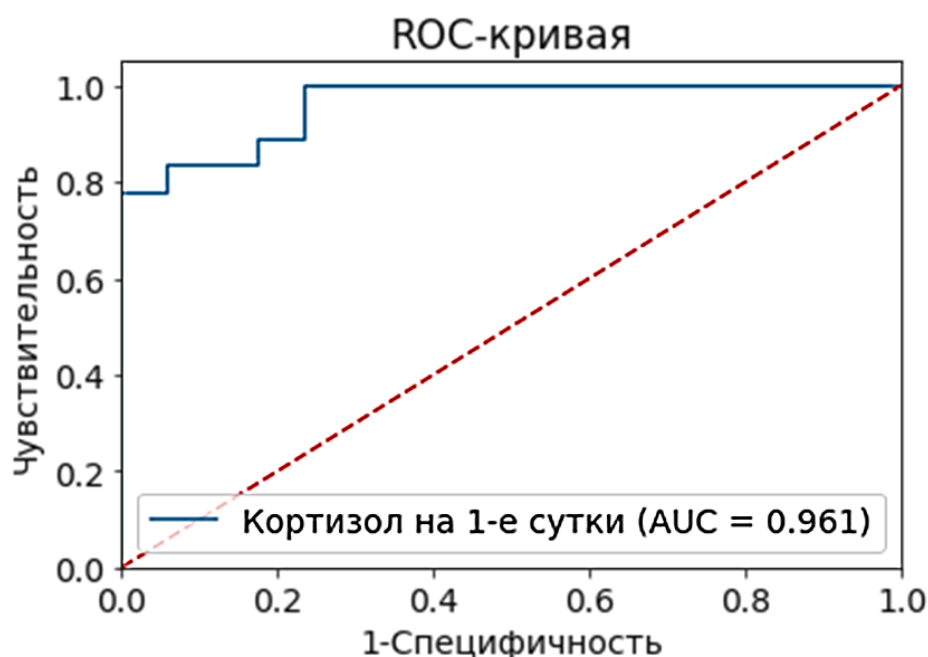


Таблица 7 – Матрица классификации 35 пациентов с наличием и отсутствием НН по уровню кортизола на 1-е сутки с отрезной точкой 325 нмоль/л

	НН есть	НН нет
Кортизол на 1-е сутки < 325 нмоль/л	17	4
Кортизол на 1-е сутки ≥ 325 нмоль/л	0	14

Операционные характеристики отрезной точки:

- ДЧ = 100% (95%-й ДИ 83–100%);
- ДС = 78% (95%-й ДИ 62–78%);
- ПЦПР = 81% (95%-й ДИ 67–91%);
- ПЦОР = 100% (95%-й ДИ 79–100%).

Таким образом, при уровне кортизола на 1-е сутки менее 325 нмоль/л НН будет с вероятностью от 67% до 91%, при уровне более или равном 325 нмоль/л НН не будет с вероятностью от 79% до 100%. Использование данного показателя оправдано преимущественно при оценке необходимости назначения в послеоперационном периоде заместительной терапии гидрокортизоном. Тем не менее необходимо отметить, что данный подход к диагностике НН у этой уникальной когорты (пациенты после ОА по поводу СК при МДГН) не соответствует клиническим рекомендациям эндокринного сообщества, однако, возможно его использование в качестве альтернативного метода диагностики.

Следующим этапом был проведен сравнительный анализ пациентов с манифестным СК и ФАПК по частоте развития ремиссии, НН, длительности НН, по динамике показателей гормонального обследования и клинических проявлений, однако, по результатам исследования было показано отсутствие статистически значимых различий по исходу ОА (ремиссия, развитие и длительность НН),

показателям гормонального обследования (кортизол после ПДТ1, СКМ и АКТГ), а также течению сопутствующих заболеваний.

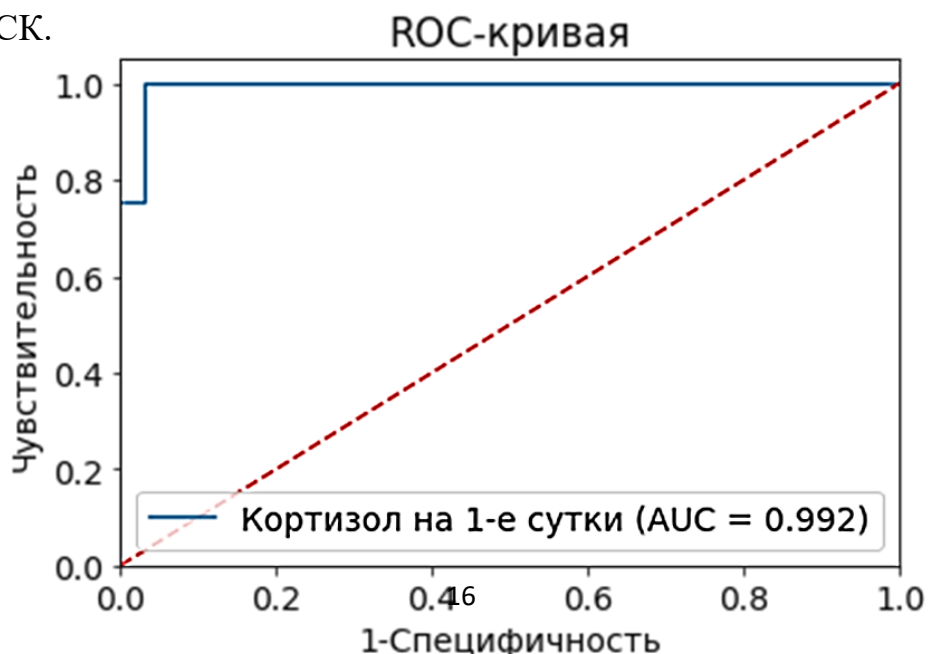
Проведен анализ факторов, оказывающих потенциальное влияние на результат оперативного лечения. Основными факторами, рассматриваемыми в качестве предикторов эффективности оперативного лечения, являлись объем остаточной ткани, доля удаленной ткани, гормональными показатели на дооперационном этапе (кортизол в ходе ПДТ1, СКМ, АКТГ), а также уровень кортизола, определенного на 1-е сутки (таб 9). Однако в результате сравнительного анализа было показано, что у пациентов с отсутствием ремиссии уровень СКМ до операции был значимо выше, чем в группе пациентов с достигнутой ремиссией, однако, с учетом введения поправки Бонферрони, можно говорить о наличии влияния более высокого уровня СКМ на результат хирургического лечения лишь на уровне тенденции, $p = 0,011$.

Таблица 9 – Сравнительный анализ групп с наличием/отсутствием ремиссии ($n = 44$)

Признак	Ремиссия есть		Ремиссии нет		p, критерий Манна –Уитни
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Объем остаточной ткани	40	6,0 [1,6; 18,7]	4	6,2; 7,4; 11,1; 16,5;	0,527
Процент удаленной опухолевой ткани	40	72,3 [58,9; 94,1]	4	44,6; 59,3; 73,5; 76,6	0,403
Кортизол после ПДТ1 до операции (нмоль/л)	40	466 [291; 718]	4	408; 503; 559; 639	0,918
СКМ до операции (нмоль/сут)	39	900 [468; 1779]	4	1892; 2134; 3124; 5063	0,011
АКТГ до операции (пг/мл)	40	1,1 [0,0; 2,1]	4	0; 1; 1; 1,4	0,501
Уровень кортизола на 1-е сутки (нмоль/л)	31	271,0 [188,0; 380,0]	4	566; 628; 741; 829	0,002
Примечание – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/6 = 0,008$					

С целью оценки диагностической значимости уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики ремиссии был проведен ROC-анализ (рис. 2). При уровне кортизола более или равном 566 нмоль/л вероятность отсутствия ремиссии составляет 93 до 100%.

Рисунок 2 – ROC-анализ уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики персистенции СК.



В ходе всего периода наблюдения, медиана которого составила 18 [12; 36] месяцев, рецидив гиперкортицизма выявлен у 4 пациентов (10%). Период безрецидивной выживаемости пациентов с гормонально-активными формами заболевания составил 12 [8; 36] месяцев.

В результате анализа факторов, которые потенциально могут оказать влияние не только на сам факт достижения ремиссии, но и возникновение рецидива, а также на продолжительность безрецидивного периода, таких как объем остаточной опухолевой ткани, процент удаленной опухолевой ткани, дооперационные уровни кортизола крови после ПТД1, СКМ, АКТГ – статистически значимого влияния на исследуемый параметр в нашей работе выявлено не было (таб. 10).

Таблица 10 – Одномерный регрессионный анализ Кокса предикторов ремиссии (n = 44)

Признак	Рецидив есть		Рецидива нет		p, регрессионный анализ Кокса	HR, 95%-й ДИ
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)		
Манифестная форма СК	5	4 (80%)	39	17 (44%)	0,817	0,93 (0,49; 1,75)
НН	5	3 (60%)	39	23 (59%)	0,899	0,96 (0,51; 1,82)
Длительность НН	3	2; 9; 12	23	6 [3; 12]	0,380	0,96 (0,87; 1,05)
Объем остаточной ткани	5	4; 5,5; 11,4; 21,3; 24,4	39	6,4 [1,2; 16,5]	0,740	1,00 (0,98; 1,03)
Процент удаленной опухолевой ткани	5	13,4; 47,0; 59,1; 72,5; 72,6	39	73,5 [59,3; 94,3]	0,228	1,01 (0,99; 1,03)
Кортизол после ПДТ1 до операции (нмоль/л)	5	290; 330; 490; 624; 1008	39	503 [291; 707]	0,737	1,00 (0,99; 1,00)
СКМ до операции (нмоль/сут)	5	131; 474; 1025; 1153; 2662	38	956 [505; 1895]	0,677	1,00 (0,99; 1,00)
АКТГ до операции (пг/мл)	5	0; 0; 1; 1,1; 1,1	39	1,0 [0; 2,1]	0,930	0,99 (0,86; 1,14)
Уровень кортизола на 1-е сутки	4	113; 188; 380; 524	31	282 [192; 438]	0,161	1,00 (0,99; 1,00)

Важно отметить, что необходимо принимать во внимание тот факт, что гиперпластическая ткань надпочечников при МДГН имеет тенденцию к постоянному, хотя и медленному, росту и что развитие рецидива, вероятно, в большей степени зависит от скорости и интенсивности увеличения узловой ткани, нежели от количества остаточной узловой ткани контрлатерального надпочечника.

В результате анализа данных, полученных в ходе текущего исследования, направленного на изучение эффективности ОА при МДГН, можно заключить, что ОА приводит к благоприятным результатам оперативного лечения у пациентов МДГН, сопровождающихся СК, даже в случае высоких предоперационных уровней общего и свободного кортизола и/или значительного объема опухолевой ткани. Полученные результаты демонстрируют благоприятное влияние хирургического лечения на течение сопутствующих заболеваний.

Результаты иммуногистохимического исследования, как метода выявления гиперэкспрессии эутопических и/или наличия aberrантных рецепторов в послеоперационном материале.

Диагноз подтвержден морфологическим исследованием у 44 прооперированных пациентов, среди 44 пациентов были отобраны 28 образцов тканей для проведения ИГХ с целью определения рецепторного статуса МДГН.

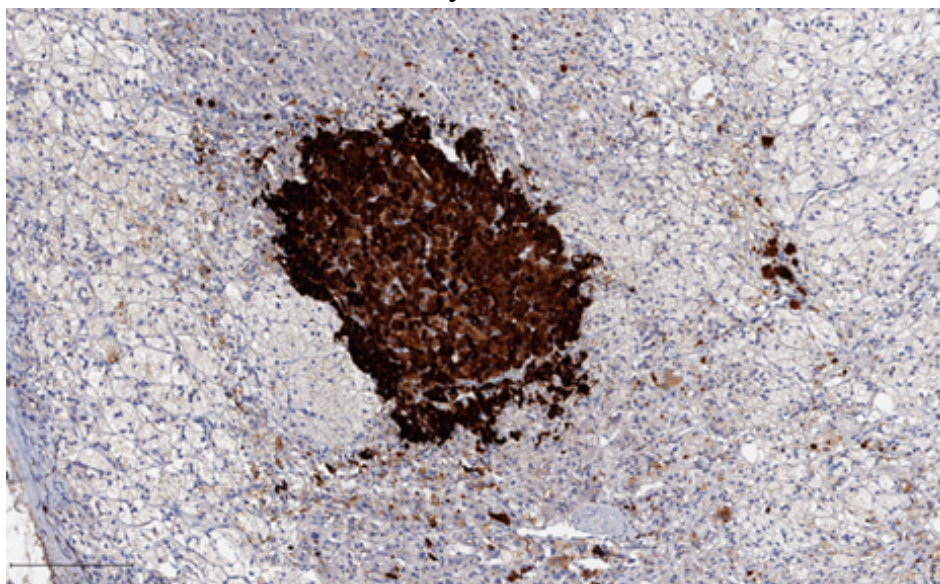
При морфологическом исследовании макроскопически определялся надпочечник, значительно увеличенный в размерах за счет формирования реже солитарного, чаще множественных узлов более 1 см охряно-желтого цвета. Наиболее часто данные узловые образования сливались в диаметре и замещали практически всю ткань надпочечника. Микроскопически определялась ткань надпочечника с признаками гиперплазии и узловой перестройкой коркового слоя, состоящей из светлых клеток с очаговой лимфоцитарной инфильтрацией. При микроскопическом исследовании принято выделять два различных гистологических подтипа: МДГН с атрофией окружающей коры (тип 1) и МДГН с гиперплазией как узловой, так и внеузловой ткани (тип 2). У 3/28 пациентов выявлен тип 1 МДГН, тип 25 у 28 пациентов, соответственно.

Внутриадrenalовая продукция АСТН

Иммунореактивность к АКТГ зафиксирована у 24 из 28 пациентов (85,7%) при этом визуализировалась очаговая цитоплазматическая реакция в клетках гиперпластической коры надпочечников и её полное отсутствие в мозговом слое, а также в клетках неизменной коры надпочечников (рисунок 3).

Изолированные кортикотропин-позитивные клетки выявлены в 13/24 доступных образцов (54,1%); в остальных 11 образцах (46,9%) были расположены в кластерах. Полуколичественное определение иммунной реакции клеток узлов показало слабое иммуноокрашивание в 20 (83,3%), умеренное и интенсивное иммуноокрашивание в 1 (4,1%) и 3 образцах (12,5%) соответственно. В материале контрольной группы секреции АКТГ не выявлено.

Рисунок 3 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная фокальная экспрессия АКТГ компактными клетками в узловой ткани надпочечника

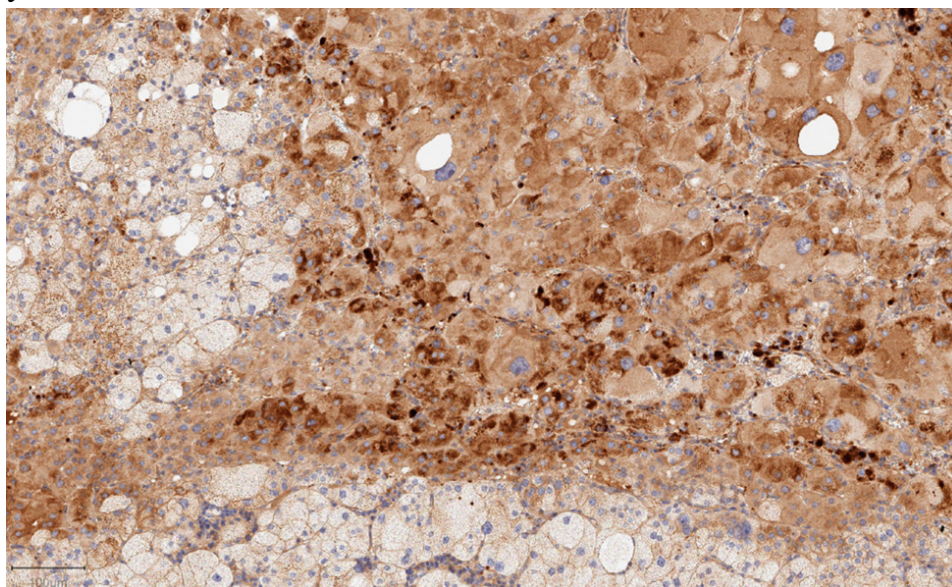


Рецепторы глюкозозависимого инсулиотропного пептида (GIPR)

По результатам проведенного исследования в тканях МДГН аберрантная экспрессия GIPR выявлена в большинстве представленных образцов – в 19/28 (67,8%). Экспрессии GIPR в клетках нормальной коры надпочечника не выявлено. Характерной для GIPR являлась цитоплазматическая иммунная реакция множественных компактных клеток, окруженных спонгиозитами (обнаружена в 18/19 образцах, 94,7%), при этом экспрессия данных рецепторов выявлена во всех частях узловой ткани. Иммунореактивные компактные клетки в половине случаев (9/18) лежали разрозненно, в остальных препаратах наблюдалась очаговая реакция.

Полуколичественная оценка иммунной реакции компактных клеток узлов показало слабое иммуноокрашивание во всех представленных образцах, кроме одного, где вы выраженная положительная реакция как в компактных клетках, так и в цитоплазме кластеров спонгиозитов (рисунок 4). При ИГХ-исследовании в группе контроля не выявлено положительной реакции с анти-GIP-антителом

Рисунок 4 - Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная изолированная экспрессия GIPR компактными клетками и умеренная цитоплазматическая реакция спонгиозитов в узловой ткани надпочечника.

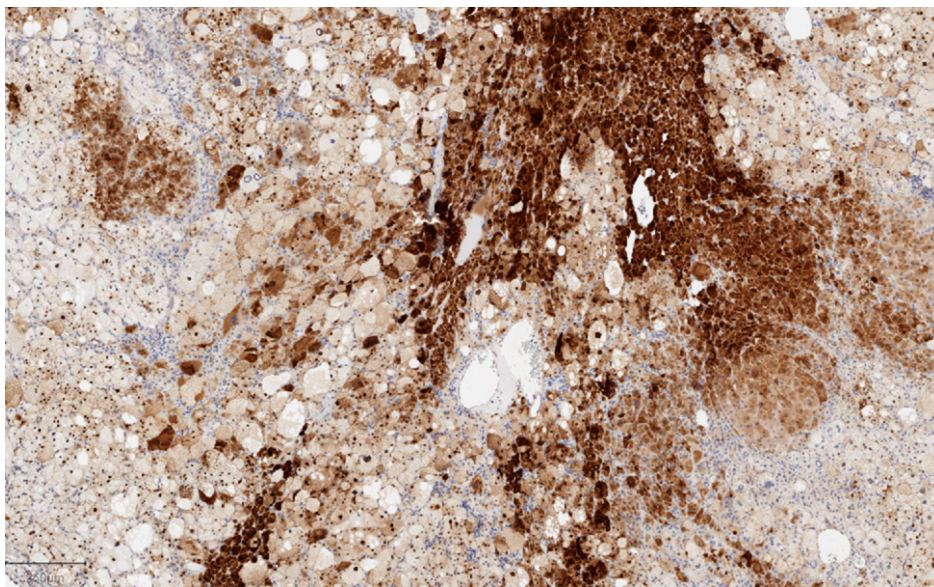


α 2-адренорецепторы

Кластеры α 2A-AR-иммунореактивных больших спонгиозитов были выявлены в узлах МДГН в 22/28 образцов (78,5%). Иммунная метка к α 2A-AR присутствовала в двух субпопуляциях клеток, как в больших спонгиозитах, так и в маленьких компактных клетках. Изолированное иммуноокрашивание спонгиозитов наблюдалось в 9 образцах (40,9%), при этом в большинстве случаев (6/9) иммунопозитивные скопления спонгиозитов находились на границе с клубочковой зоной. В свою очередь окраска компактных клеток визуализировалась в 11 образцах (50%). Полуколичественное определение иммунной реакции спонгиозитов и компактных клеток показало умеренное (++) и интенсивное (+++) иммуноокрашивание в 2 и 1 образцах, соответственно. В остальных случаях (19/22, 86%) реакция расценена как слабopоложительная (+). В ткани узлов ядерная реакция с анти- α 2A-AR -антителом

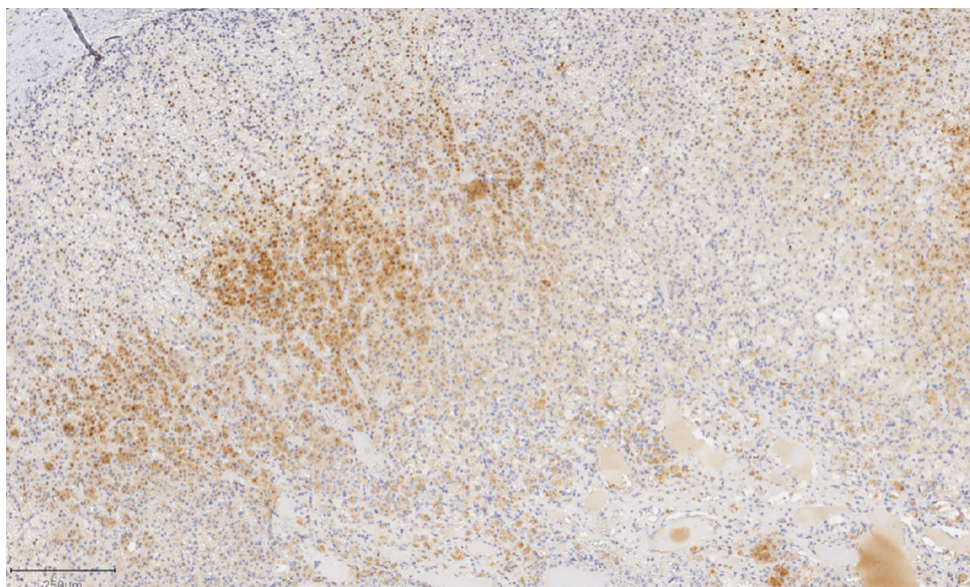
зафиксирована в 12/22 образцов (54,5%), и визуализировалась как в ядрах компактных клеток, так и больших спонгиозитов (Рисунок 5).

Рисунок 5 - Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная цитоплазматическая очаговая экспрессия $\alpha 2A$ -AR компактными клетками и спонгиозитами в узловой ткани надпочечника.



При анализе контрольной группы в 6 образцах впервые получена положительная слабая фокальная экспрессия $\alpha 2A$ -AR в цитоплазме и ядрах спонгиозитов пучковой зоны коры надпочечников (Рисунок 6).

Рисунок 6 – Контрольная ткань. Реакция с антителами против $\alpha 2A$ -AR. Слабоположительная цитоплазматическая и ядерная экспрессия $\alpha 2A$ -AR в кластере спонгиозитов.

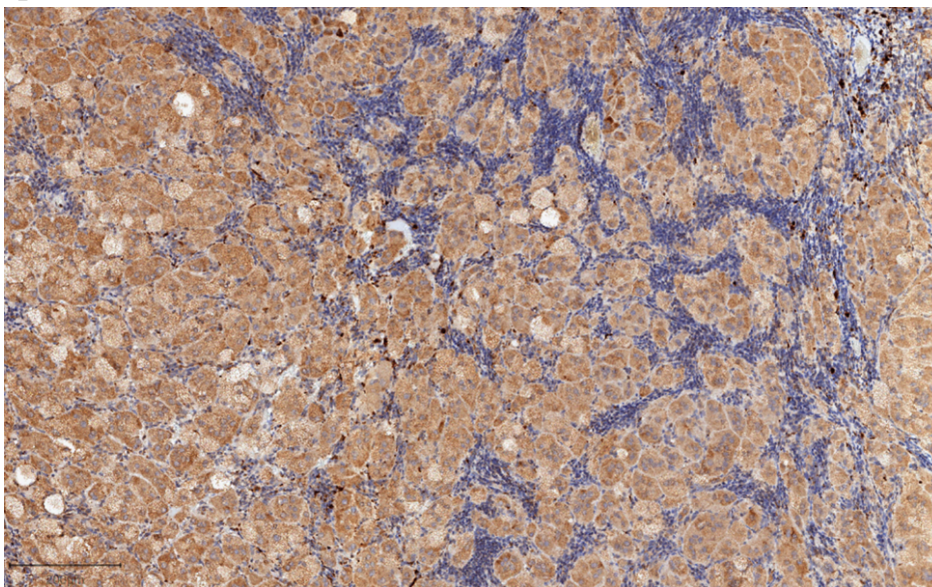


$\beta 1$ -адренорецепторы

Сочетанное иммуноокрашивание спонгиозитов и компактных клеток получено в 8 образцах (28,5%), а положительная реакция присутствовала изолированно в больших клетках в 13 образцах (46,4%), а в мелких клетках в 7 случаях (25%). Ядерной экспрессии $\beta 1$ -AR не выявлено (рисунок 7).

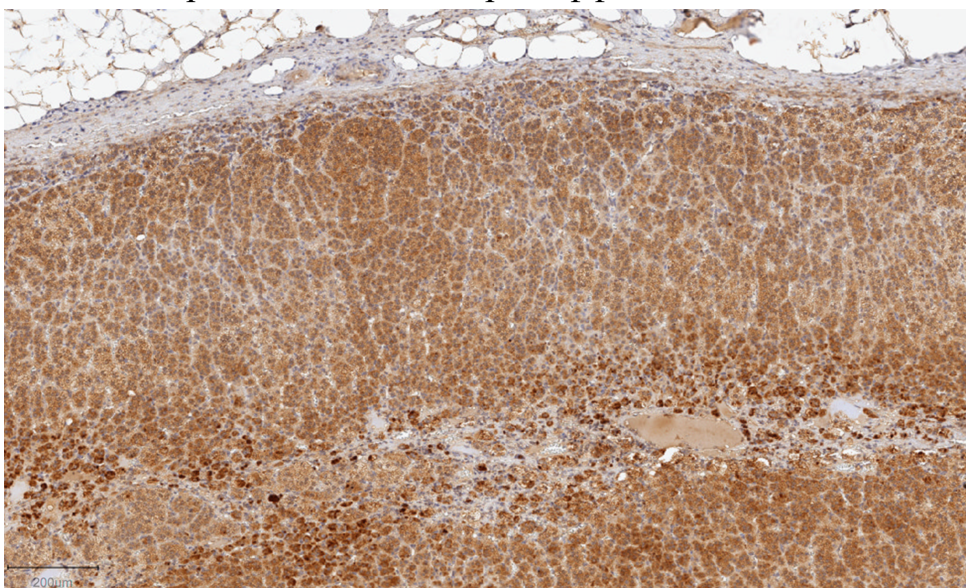
Интерпретацию результатов ИГХ проводили с использованием полуколичественной оценки, слабopоложительная реакция (+) обнаружена в 12/28 (42,8%), умеренная (++) и выраженная реакция (+++) в 5 (17,8%) и 11 (39,2%) соответственно.

Рисунок 7 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Реакция с антителами против $\beta 1$ -AR: умеренная очаговая цитоплазматическая реакция в спонгиозитах, выраженная цитоплазматическая реакция в единичных компактных клетках, окруженных лимфоидными элементами



При оценке контрольной ткани выявлено, что $\beta 1$ -AR присутствовали во всех слоях коркового слоя неизменной ткани надпочечника, выраженность экспрессии не отличалась от таковой при МДГН (рисунок 8).

Рисунок 8 – Контрольная ткань. Реакция с антителами против $\beta 1$ -AR. Умеренная диффузная цитоплазматическая экспрессия $\beta 1$ -AR адренокортикальными клетками, выраженная реакция изолированных клеток хромаффиной ткани

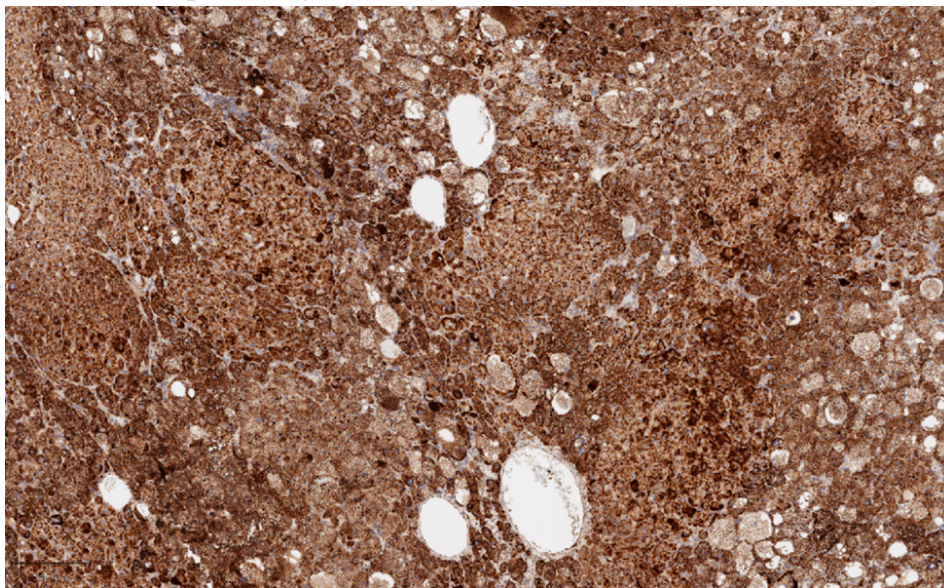


$\beta 2$ -адренорецепторы

Наибольшую вариабельность в полученных результатах ИГХ показала экспрессия $\beta 2$ -AR

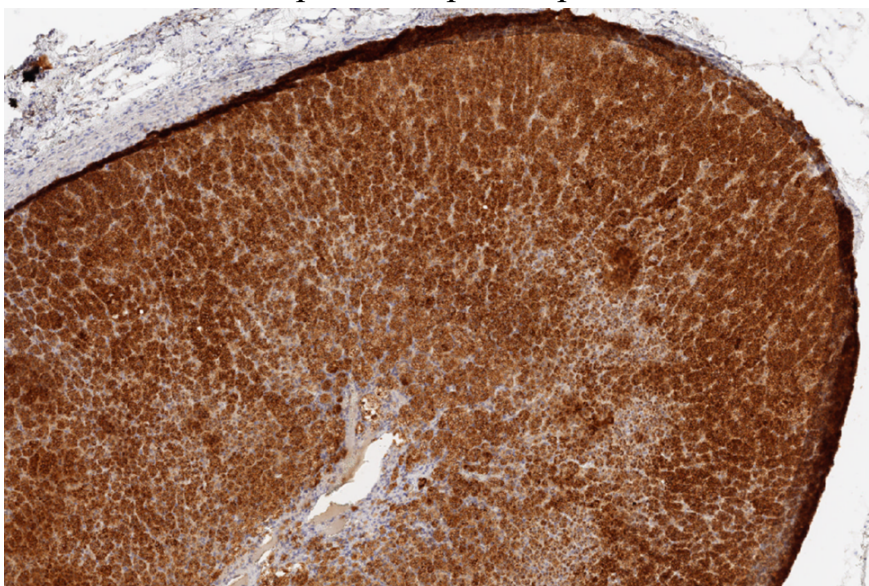
Степень экспрессии оценивалась полуколичественным методом, так выявлена умеренная фокальная (++) цитоплазматическая экспрессия $\beta 2AR$ в клетках узлов МДГН в 15 случаев (53,5%), выраженная диффузная цитоплазматическая реакция (+++) в - 9/28 (32,1%) (рисунок 9). В остальных образцах (13/28, 46,4%) реакция расценена как слабоположительная (+). Иммунная метка присутствовала в большинстве случаев изолированно в спонгиозитах (18/28, 64,2%), в компактных клетках в 2 случаях (7,1%). В случае $\beta 2AR$ наиболее характерна реже умеренная, чаще выраженная интенсивность окрашивания цитоплазмы отдельных клеток или фокусов клеток.

Рисунок 9 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Интенсивная диффузная цитоплазматическая экспрессия $\beta 2AR$ в узловой ткани надпочечника.



При анализе контрольной группы получены результаты аналогичные тем, что получены у пациентов с МДГН. Во всех слоях определялась либо умеренная, либо выраженная экспрессия $\beta 2-AR$, иммунная метка присутствовала во всех слоях коркового слоя неизменной ткани надпочечника, в равной степени она выявлялась и в изолированных клетках мозгового слоя надпочечников (рисунок 10).

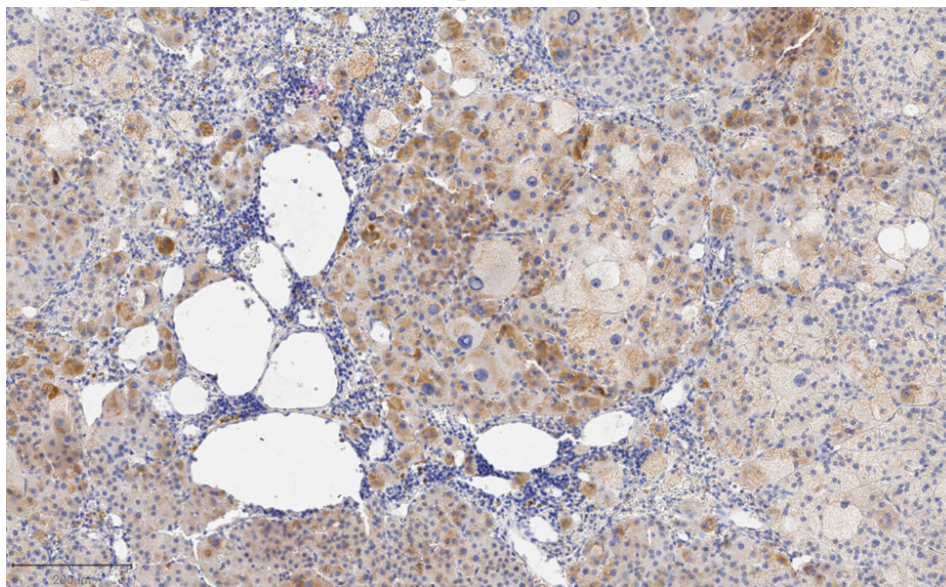
Рисунок 10 – Контрольная ткань. Реакция с анти- $\beta 2-AR$ -антителом. Выраженная диффузная цитоплазматическая экспрессия адренокортикальными клетками.



Рецепторы серотонина 7-го типа

При ИГХ-исследовании тканей МДГН с анти-5-HT7 рецепторными антителами выявлена положительная реакция в 57,1% случаев (16/28) (рисунок 11). При полуколичественной оценке экспрессии 5-HT7R в 14 образцах отмечалась слабая экспрессия данных рецепторов, умеренная экспрессии в 2 образцах соответственно. В контрольной группе (неизмененных тканях) иммунной реакции не выявлено

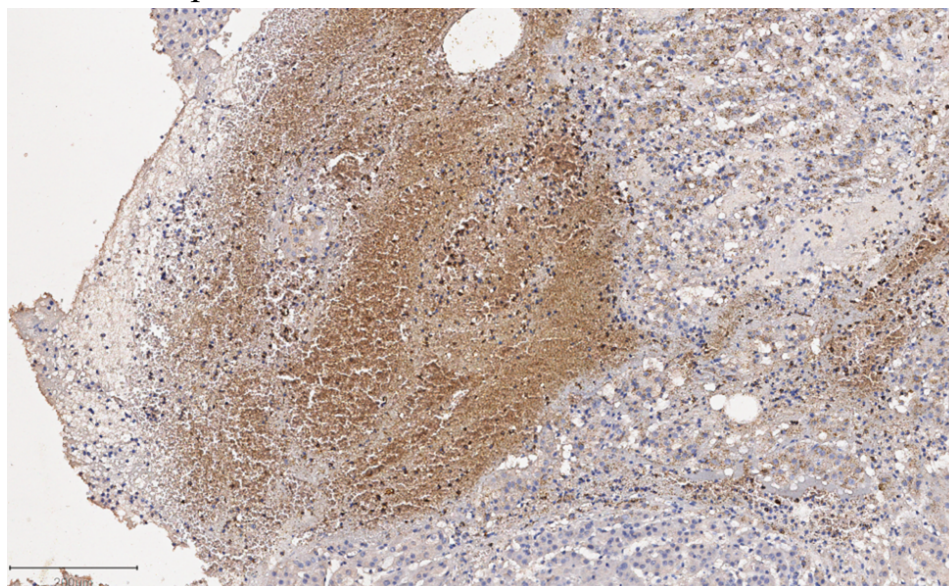
Рисунок 11 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная цитоплазматическая реакция с антителами против 5-HT7R.



Рецепторы вазопрессина 1-го типа

По данным полученных результатов ИГХ-исследования отмечалось слабоинтенсивное мечение анти-AVPR1-антителом в обеих субпопуляциях клеток – спонгиозитах и небольших компактных клетках в 25% случаев (7/28) (Рисунок 12). При полуколичественной оценке экспрессии AVPR1 во всех образцах отмечалась слабая экспрессия данных рецепторов (+). При исследовании тканей контрольной группы отсутствовала реакция в пучковой зоне коры надпочечников.

Рисунок 12 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная фокальная цитоплазматическая экспрессия AVPR1 компактными клетками.

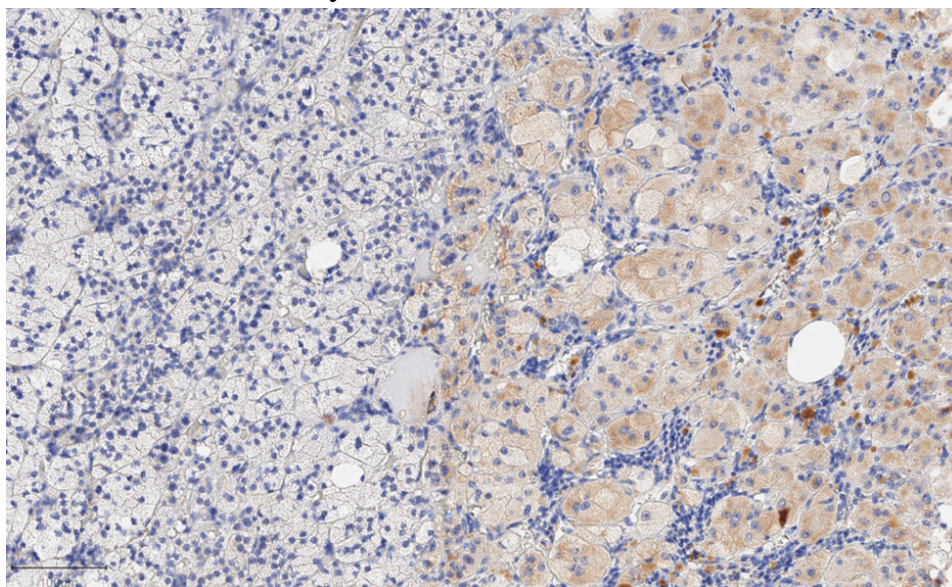


Рецепторы лютеинизирующего гормона/хорионического гонадотропина человека (LH/hCGR)

Экспрессия эутопического LH/hCGR выявлена в 23 образцах из 28 (82,1%), в том числе данный тип рецепторов у 3 из 5 мужчин.

Из 23 образцов в 11 случаях (47,8%) иммунное мечение наблюдалось в незначительном количестве компактных клеток, изолированная реакция в больших клетках зафиксирована в 4 образцах (14,2%), в остальных случаях визуализировалась слабая реакция как в цитоплазме больших спонгиоцитов, так и в мелких клетках. При полуколичественной оценке получена низкая экспрессия LH/hCGR в 16 случаях, при этом практически в четверти образцах (8/23) изолированные единичные компактные клетки определяются в лимфоидных скоплениях (рисунок 13). В контрольной группе экспрессии LH/hCGR в корковом слое коры надпочечников не выявлено.

Рисунок 13 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Слабовыраженное мечение антителами против LH/hCGR в цитоплазме спонгиоцитов и умеренное прокрашивание компактных клеток узловой ткани надпочечника.



Таким образом, ИГХ-исследование экспрессии рецепторов клеток при МДГН продемонстрировало, что у каждого пациента с данным заболеванием идентифицируется более 1 aberrантного/эутопического рецептора, что безусловно затрудняет подбор специфической или таргетной медикаментозной терапии. С учетом ограниченной репрезентативности выборки в связи с редкостью данной патологии, полученные данные не позволяют в полной мере охарактеризовать узловую трансформацию при МДГН, однако результаты данного исследования наглядно демонстрируют выраженную гетерогенность узлов: помимо количественного соотношения спонгиоцитов и компактных клеток, узловая ткань МДГН показала большое разнообразие не только по наличию, но и по степени рецепторной экспрессии. Более того, необходимо отметить, что из-за отсутствия диффузного характера экспрессии рецепторов (GIPR, 5-HT7R, AVP1R, LH/hCGR) или АКТГ, допускается получение ложно-негативного результата, когда в исследуемой части образца

отсутствует очаг экспрессии данного рецептора, а в соседнем фрагменте, не попавшим в исследование, реакция может быть позитивной. Однако преимуществом ИГХ-метода является четкая визуализация рецепторных очагов, что не представляется возможным при ПЦР-РВ, в результате чего, при исследовании ткани, возможно взятие образца «вне фокальной экспрессии рецептора», в связи с чем более высок риск получения ложноотрицательного результата, чем при ИГХ-исследовании.

По результатам исследования полученные данные ставят под сомнение необходимость рутинного выполнения ИГХ-исследования в клинических условиях в связи с рядом причин. Во-первых, нами установлена выраженная рецепторная гетерогенность узловых образований при МДГН ввиду чего не соблюдаются условия назначения медикаментозной терапии, т.е. с учетом множественной сочетанной экспрессии рецепторов у всех пациентов с МДГН, использование антагонистов аберрантных рецепторов не позволит обеспечить устойчивый среднесрочный/долгосрочный контроль над гиперкортицизмом. Во-вторых, в большинстве случаев характер экспрессии рецепторов был кластерный или очаговый, что увеличивает вероятность получения ложноотрицательного результата, в случае отсутствия данного кластера в исследуемых срезах ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день хирургическое лечение является единственным эффективным способом лечения манифестного СК при МДГН. Ввиду двустороннего характера поражения наиболее часто в России выполняется двусторонняя адреналэктомия, требующая пожизненного приема заместительной терапии. В результате анализа данных, полученных в ходе текущего исследования, направленного на изучение эффективности ОА при МДГН, можно заключить, что ОА приводит к благоприятным результатам оперативного лечения у пациентов МДГН сопровождающейся СК, и может быть рекомендована в качестве первого этапа лечения. Более того, полученные результаты демонстрируют не только успешное достижение эукортицизма в отдаленном послеоперационном периоде, но и благоприятное влияние хирургического лечения на течение сопутствующих заболеваний. Однако, несмотря на обнадеживающие результаты ОА, эффективность ОА у части пациентов носит временный характер. Пациенты, перенесшие успешную ОА, по-прежнему нуждаются в тщательном пожизненном наблюдении в связи с высокой вероятностью рецидива гиперкортицизма в отдаленном послеоперационном периоде.

В большинстве случаев пациенты после проведенного оперативного лечения нуждаются в заместительной терапии препаратами гидрокортизона, однако, у части пациентов состояние эукортицизма достигается сразу после операции. Ввиду высокого риска развития НН в послеоперационном периоде впервые исследован уровень кортизола крови взятого на 1-е сутки после ОА в качестве предиктора развития НН. Была выявлена высокая диагностическая эффективность данного показателя ($AUC = 0,961$), отрезная точка составила 325 нмоль/л. Рекомендовано исследование

данного показателя для определения необходимости назначения заместительной терапии гидрокортизоном в послеоперационном периоде.

При возникновении рецидива определялась возможность назначения медикаментозной терапии при условии монорецепторной экспрессии. Нами впервые произведен поиск рецепторных предикторов клинического ответа на медикаментозную терапию при рецидиве гиперкортицизма после ОА. По результатам ИГХ-исследования послеоперационного материала была установлена множественная, чаще кластерная рецепторная экспрессия аберрантных и эутопических рецепторов, что позволяет предположить невысокую эффективность таргетной терапии, и объяснить данные исследователей (в частности Lacroix и соавт.) как о низкой эффективности терапии, так и о феномене быстрого ускользания эффекта от проводимого лечения.

На основании полученных результатов нами был предложен алгоритм ведения пациентов с МДГН (Рис.14).

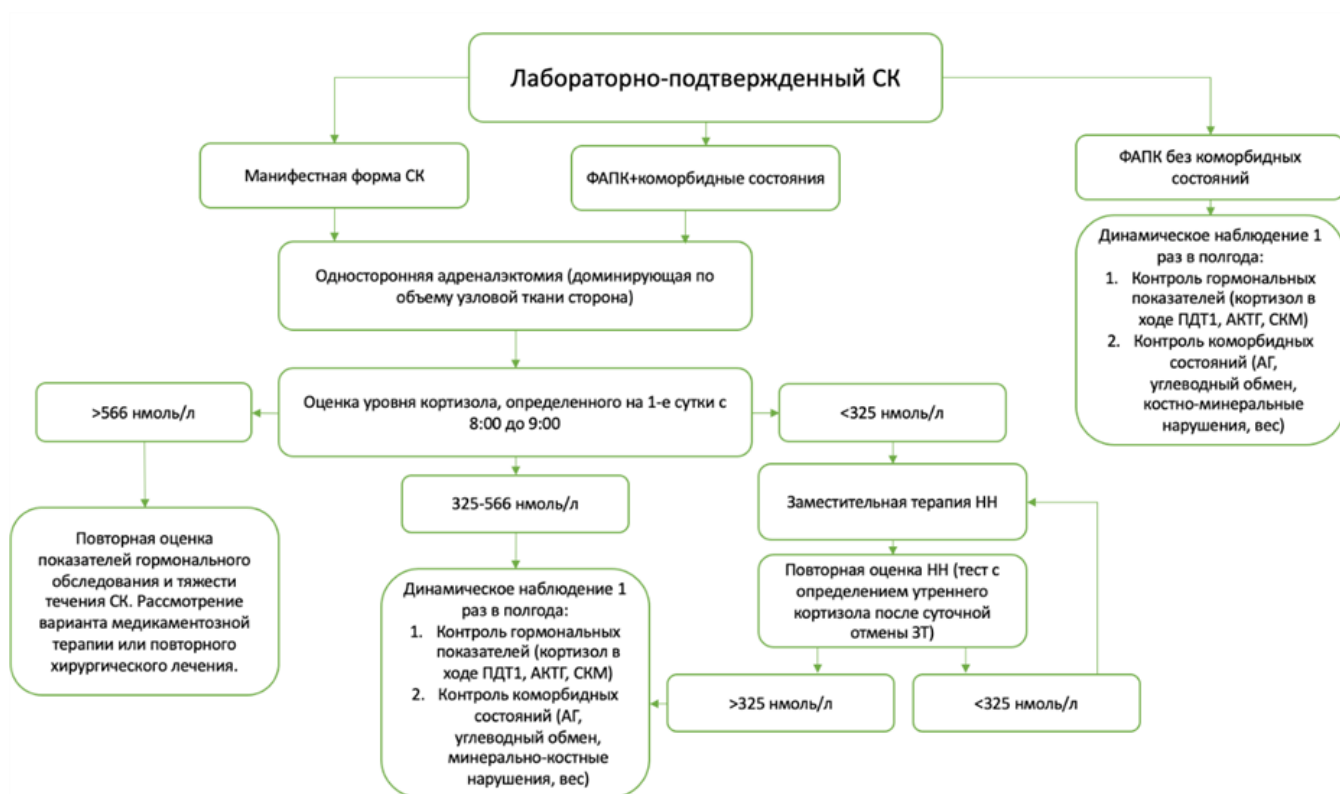


Рисунок 14 - Алгоритм ведения пациентов с МДГН, сопровождающимся СК.

ВЫВОДЫ

1. ОА является эффективным методом лечения пациентов с СК при МДГН, в подавляющем большинстве наблюдений (91%) приводящим к биохимической ремиссии СК с высокими показателями безрецидивного периода (12 [8; 36] месяцев).

2. Определение уровня кортизола крови (8:00–9:00) в 1-е сутки после односторонней адреналэктомии у пациентов с МДГН высокоэффективно в качестве предиктора развития НН. При снижении уровня кортизола менее 325 нмоль/л вероятность развития НН составляет 81%.

3. Статистической значимой ассоциации показателей гормонального обследования на дооперационном этапе (кортизол в ходе ПДТ1, СКМ, АКТГ), а также объема остаточной ткани и процента удаленной ткани с отсутствием достижения ремиссии гиперкортицизма после ОА не обнаружено.

4. ИГХ-исследование рецепторной экспрессии при МДГН продемонстрировало возможность идентификации aberrантных/эутопических рецепторов.

5. ИГХ-исследование послеоперационных образцов продемонстрировало множественную сочетанную экспрессию рецепторов у всех пациентов с МДГН.

6. Экспрессия адреналовых рецепторов присутствует в неизмененных тканях коры надпочечников, α -АР и β -АР в 6/14 и 14/14 образцах.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Односторонняя адреналэктомия рекомендована в качестве первого этапа лечения МДГН, сопровождающейся СК.

2. Послеоперационное назначение глюкокортикоидов рекомендовано всем пациентам при односторонней адреналэктомии по поводу МДГН при снижении уровня кортизола крови (8:00–9:00), определенного в течение 1-х суток, менее 325 нмоль/л.

3. Ввиду двустороннего характера поражения, продолженного роста узлов контратерального надпочечника, вероятности развития рецидива в отдаленном послеоперационном периоде, представляется закономерным скрининг пациентов. Рекомендуются полугодовое обследование для исключения рецидива гиперкортицизма пациентам с МДГН после ОА.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шевэ А., Селиванова Л.С., Кузнецов Н.С., Деркач Д.А., Юкина М.Ю., Бельцевич Д.Г. Иммуногистохимическое исследование экспрессии аберрантных/эутопических рецепторов у пациентов с макронодулярной гиперплазией надпочечников. Проблемы Эндокринологии. 2020;66(6):4-12.
2. Anastassia Chevais, Dmitry Beltsevich, Daria Ladygina. Isolated Primary Pigmented Micronodular Adrenal Disease. Unilateral or Bilateral Adrenalectomy? Two Cases Report, Journal of the Endocrine Society, Volume 4, Issue Supplement_1, April-May 2020, SUN-162
3. Бельцевич Д.Г., Трошина Е.А., Мельниченко Г.А., Платонова Н.М., Ладыгина Д.О., Шевэ А. Проект клинических рекомендаций «Инциденталомы надпочечника». Эндокринная хирургия. 2021;15(1):4-26.
4. Шевэ А., Елфимова А.Р., Бельцевич Д.Г. Клинико-лабораторные особенности макронодулярной двусторонней гиперплазии надпочечников // Проблемы эндокринологии. — 2023. — Т. 69. — №3. — С.61-70
5. Шевэ А., Бельцевич Д.Г., Елфимова А.Р., Деркач Д.А., Романова А.Н., Эбзеева А.К. Односторонняя адреналэктомия при двусторонней макронодулярной гиперплазии надпочечников // Эндокринная хирургия. — 2023. — Т. 17. — № 1. — С. 28-38