

ГНЦ РФ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Шевэ Анастасия Людмила

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

3.1.19. Эндокринология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

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

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Определение, классификация и эпидемиология	9
1.1.1. Определение	9
1.1.2. Классификация	9
1.1.3. Эпидемиология.....	9
1.2. Этиология и патогенез	11
1.2.1. Этиология	11
1.3. Диагностика	32
1.3.1. Лабораторная диагностика	32
1.3.2. Сцинтиграфия с 1-6-р-йодметилхолестеролом (NP-59)	34
1.3.3. Дифференциальная диагностика МДГН.....	34
1.3.4. Диагностика аберрантных/эутопических рецепторов	37
1.3.5. Предоперационные тесты	37
1.3.6. Послеоперационные исследования – ПЦР, ИГХ, ИФА.....	39
1.3.7. Внутриадренальная продукция АКТГ.....	44
1.4. Лечение.....	45
1.4.1. Хирургическое лечение	45
1.4.2. Послеоперационная надпочечниковая недостаточность	51
1.4.3. Медикаментозное лечение.....	52
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.	55
2.1. Пациенты, включенные в исследование	55
2.2. Дизайн исследования	56
2.3. Клиническое обследование	58
2.4. Методика забора биологического материала и проведения фармакологических тестов	58
2.5. Лабораторные методы исследования	59
2.6. Инструментальные методы исследования.....	59
2.7. Хирургическое лечение	60
2.8. Морфологический и иммуногистохимические методы исследования.....	61
2.8.1. Морфологическое исследование.....	62
2.8.2. Иммуногистохимическое исследование	62
2.9. Статистическая обработка результатов	63
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	65
3.1. Общая характеристика пациентов.....	65
3.1.1. Обсуждение полученных результатов	69
3.1.2. Клинический случай 1	72
3.2. Результаты односторонней адреналэктомии у пациентов с гиперкортицизмом при МДГН	76
3.2.1. Обсуждение полученных результатов	82
3.2.2. Клинический случай 2	87

3.3. Результаты иммуногистохимического исследования, как метода выявления гиперсекреции эутопических и/или наличия aberrантных рецепторов в послеоперационном материале	89
3.3.1. Внутриадреналовая продукция АСТН	91
3.3.2. Обсуждение полученных результатов	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	117
ВЫВОДЫ	118
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	119
ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	122

ВВЕДЕНИЕ

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.

Двусторонние образования надпочечников, которые выявляются в 10–17% случаев инциденталом, условно разделяются на гормонально-активные и гормонально-неактивные [228]. Среди гормонально-активных опухолей значительную часть представляют опухоли, которые сопровождаются развитием синдрома Иценко – Кушинга (СК) – эндокринным заболеванием, характеризующимся длительным повышением уровня кортизола. Социальная значимость данной группы патологии заключена в нескольких факторах: 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 [202], [200]. Пятилетняя выживаемость пациентов с СК без лечения составляет 50% [169].

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 большинстве случаев МДГН является случайной находкой при рентгенологическом исследовании и в основном сопровождается функционально-автономной продукцией кортизола (ФАПК). В настоящее время данное заболевание рассматривается как гетерогенная патология с различными клиническими, гормональными и радиологическими характеристиками. МДГН является редкой причиной СК. Классическая картина МДГН с резко увеличенными надпочечниками и манифестной формой СК встречается намного реже, чем МДГН с ФАПК. В отличие от более распространенной опухоли коркового слоя – кортикостеромы, МДГН не изучена в должной мере. Причиной данного факта является небольшая распространенность этого заболевания, которая частично обусловлена низкой выявляемостью. 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 [203], [147].

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 адреналэктомия. Приоритетным направлением являлся поиск этиопатогенетических (молекулярных, генетических) факторов развития МДГН. В начале 1990-х годов впервые была обнаружена экспрессия аберрантных рецепторов в узловых образованиях надпочечников [103], [172], [102]. Данное открытие предоставляло новую возможность лечения, а именно назначение патогенетической терапии, и, как следствие, достижение эукортицизма без проведения оперативного вмешательства. Однако, последующие многочисленные исследования показали наличие разнообразных рецепторов в узлах надпочечников при МДГН, чаще всего данная экспрессия была сочетанной, а комбинация рецепторов варьировала у каждого больного [73].

Результатом данных работ явился новый этап в диагностике и лечении больных с МДГН, в частности, проведение дооперационных стимуляционных проб с последующим подбором медикаментозной терапии [236]. Однако практикующее медицинское сообщество в своей работе столкнулось с рядом сложностей, связанных с трудоемкостью тестов (трехдневная подготовка пациентов перед выполнением проб, необходимость госпитализации), ошибками в ходе их выполнения, правильностью интерпретации результатов, дороговизной исследования, а также ускользания эффекта лечения у большей части пациентов. До 59% случаев требовали проведения последующего оперативного вмешательства [61].

В 2015 г. Debillion и соавт. опубликовали результаты 5-летнего наблюдения пациентов после односторонней адреналэктомии (ОА), свидетельствовавшие о высокой эффективности односторонней операции [47]. Несмотря на двусторонний гиперпластический процесс, у 40% пациентов в послеоперационном периоде наблюдались клинические признаки надпочечниковой недостаточности (НН) и синдрома «недостаточности глюкокортикоидов», потребовавшего назначения заместительной терапии. По данным лабораторных исследований в динамике у остальной части пациентов в этой выборке достигнут стойкий эукортицизм.

Однако, с накоплением данных выявлено, что эффективность одностороннего оперативного вмешательства при МДГН, сопровождающейся СК, не столь высока, как заявлялось в пилотном исследовании [161], [185], [223]. Ввиду немногочисленности таких исследований и небольшой выборки пациентов было бы актуальным отследить 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.

Патогенез гипокортицизма/эуортицизма после ОА требует детального разъяснения. Не исключается влияние белковой буферной системы на течение данного процесса. Известно, что концентрация транскортина (ТК) изменяется при различных стрессовых состояниях, а его аффинность при СК (центрального генеза, кортикостероме, АКТГ-эктопии) – на 40% ниже, чем у здоровых людей.

В послеоперационном периоде непосредственный доступ к гистологическому материалу дает возможность проведения более точных исследований рецепторного статуса узловых образований — иммуногистохимического исследования (ИГХ), полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментного анализа (ИФА). 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.

Степень разработанности темы исследования

В настоящий момент не разработан единый алгоритм диагностики рецепторного статуса узловых образований, а также нет работ, направленных на изучение ИГХ особенностей узлов при МДГН. Оценка исходов одностороннего оперативного лечения проведена рядом иностранных авторов, однако представленные результаты значительно варьируют. Отечественных исследований, посвященных изучению эффективности односторонней адреналэктомии, не опубликовано. На данный момент не существует показателя, определяющего риск развития НН в послеоперационном периоде.

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 аутопических и/или наличия aberrантных 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.

Впервые изучена возможность и отработана методика выявления экспрессии аутопических и аберрантных рецепторов методом ИГХ в послеоперационном материале у пациентов с МДГН.

2. Впервые выявлена множественная рецепторная экспрессия ИГХ-методом при МДГН.

3. 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 в подавляющем большинстве наблюдений позволяет достигнуть длительной биохимической ремиссии 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.

Степень достоверности и апробация полученных результатов

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

Публикации

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.

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.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Определение, классификация и эпидемиология

1.1.1. Определение

Макронодулярная двусторонняя гиперплазия надпочечников (МДГН) – это редкая форма доброкачественного поражения надпочечников, которая характеризуется двусторонним увеличением надпочечников в результате наличия множественных узлов, размер которых превышает 1 см и приводит в ряде случаев к избыточной продукции кортизола. МДГН в достаточной мере гетерогенная патология. Это обусловлено различной степенью гормональной активности узловых образований, а также чрезвычайно вариабельной клинической и радиологической симптоматикой.

1.1.2. Классификация

Единая общепринятая классификация МДГН в настоящий момент отсутствует.

Условно в зависимости от клинического течения заболевания возможно выделить:

- 1) МДГН, сопровождающаяся развитием синдрома Кушинга:
 - манифестная форма,
 - функционально-автономная продукция кортизола (ФАПК),
- 2) МДГН со смешанной гормональной активностью (гиперальдостеронизм, гиперкортицизм);
- 3) МДГН без гормональной активности.

1.1.3. Эпидемиология

Общая заболеваемость синдромом Кушинга (СК; эндогенный гиперкортицизм) составляет примерно от 1,8 до 3,2 новых случаев на миллион человек в год [77]. Распространенность СК достигает 1/12 000, на долю АКТГ-независимых форм приходится около 20%.

Однако, необходимо учитывать, что популяционные исследования, изучающие эпидемиологию синдрома Кушинга ограничены, и, большинство из них сосредоточено на изучении болезни Иценко – Кушинга (БК). Одно из самых ранних эпидемиологических исследований в этой области проведено в Испании и опубликовано в 1994 г. По данным этой публикации, годовая заболеваемость СК составляла около 2,4 случая на миллион в год, а распространенность – 39,1 случая на миллион населения [55].

За последние два десятилетия было проведено несколько исследований, в которых произведен анализ медицинской документации для выделения форм эндогенного гиперкортицизма и установления их распространенности, а также заболеваемости населения [126], [22]. В 2001 г. датские исследователи Lindholm и соавт. опубликовали работу, в которой были обследованы 166

пациентов с эндогенным СК, диагностированным между 1985 и 1995 г. Годовая заболеваемость составила 2,3–2,7 на миллион человек для всех форм эндогенного СК, среди которых 1,2–1,7/млн приходились на БК, 0,8/млн на СК надпочечниковой этиологии (0,2/млн для аденокарциномы надпочечника (АКР)), 0,3/млн – АКТГ – эктопированный синдром. При первичном обращении средний возраст составлял 41,4 года с преобладанием среди пациентов женского пола [126]. Второе исследование, проведенное Bolland и соавт. в Новой Зеландии, выявило 253 пациента с диагностированным СК между 1960 и 2005 г. Исключив случаи АКР, годовая заболеваемость СК составила 1,8/млн (1,3/млн для БК, 0,4/млн СК надпочечниковой этиологии и 0,1/млн для АКТГ-эктопированного СК). Распространенность СК составила 79 случаев на миллион, а средний возраст на момент постановки диагноза составлял 39 лет с преобладанием пациентов женского пола (74%) [22]. В эпидемиологическом исследовании в Швеции Wengander и соавт. были проанализированы медицинские записи 236 пациентов с диагностированным СК между 2002 и 2017 гг. После постановки диагноза и включения только подтвержденных случаев эндогенного СК и тех, кто проживает в определенной географической области, к концу исследования были отобраны 82 пациента. Годовая заболеваемость СК составила 3,2/млн (БК – 1,5/млн, аденомы надпочечников с ФАПК – 0,5/млн, эктопированный СК – 0,8/млн, АКР – 0,2/млн). Распространенность достигала 57 случаев на миллион. Средний возраст при постановке диагноза составлял 50 лет, и 70% пациентов случаев СК были женского пола [222].

Несмотря на то, что СК надпочечникового генеза является одной из наиболее распространенных причин эндогенного СК, существует лишь ограниченное количество исследований, посвященных эпидемиологии данной патологии. Среди таких работ можно выделить корейское общенациональное исследование Ahn и соавт., в которое было включено 1199 пациентов, обследованных в период с 2002 по 2017 гг. Стандартизированная по возрасту годовая заболеваемость была значительно выше, чем заявлялось ранее. Зарегистрировано 1,27 новых случая на миллион населения в год, с распространенностью 23,4 случая на миллион (1/42 000). Средний возраст диагностики составил примерно 45 лет, а соотношение женщин и мужчин – 3:2 [35].

Макронодулярная гиперплазия является очень редкой патологией и составляет менее 2% СК, однако истинная распространенность неизвестна, ввиду отсутствия у большинства больных ярких клинических проявления гиперкортицизма. МДГН является наиболее частой причиной двусторонних образований надпочечников (до трети случаев) наряду с метастазами злокачественных опухолей различной локализации и феохромоцитомой. Большинство случаев МДГН выявляются случайно во время компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), ультразвуковом исследовании (УЗИ) при обследовании не по поводу надпочечниковой патологии. В связи с увеличением использования лучевых методов диагностики, выявляемость МДГН также возрастает. Вследствие этого, большинство эпидемиологических данных о

функционально-автономной продукции кортизола (ФАПК) или субклиническом СК при МДГН получено из исследований по инциденталомам надпочечников. По данным различных работ распространенность СК колеблется от 5 до 20% [10], [205], [51]. В мета-анализ Paschou и соавт. включены 1239 пациентов с выявленными инциденталомами в период с 2011 по 2014 гг. На долю МДГН приходилось 21,9% случаев, признаками функциональной активности обладали 26,3–42% образований. Так, в работе Vassiliadi и соавт. ФАПК выявлялась значительно чаще у пациентов с двусторонними инциденталомами ($41 \pm 5\%$ при двустороннем и $12 \pm 2\%$ при одностороннем поражении) [164], [209]. Диагноз ФАПК устанавливали на основании уровня кортизола после ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона ($5\text{--}138$ нмоль/л) и хотя бы одного из следующих критериев: (а) уровень АКТГ $< 2,2$ пмоль/л, (б) кортизола суточной мочи > 331 нмоль/сут, и (с) вечерний кортизол в сыворотке > 250 нмоль/л.

По данным ретроспективных исследований МДГН наиболее часто встречается у людей среднего и пожилого возраста (50–70 лет) [209], [8], [158], [148]. Ограничением данных исследований является отсутствие патологоанатомического подтверждения диагноза МДГН, поскольку в подавляющем большинстве случаев такие пациенты не были оперированы.

Долгосрочная выживаемость пациентов с СК значительно варьирует в различных исследованиях. Стандартизированный коэффициент летальности колеблется от 1,7 до 7,5. Однако, необходимо учитывать тот факт, что эти исследования включали лишь небольшое количество пациентов (от 16 до 84 пациентов) [22], [126], [157], [224]. В работе Ahn и соавт., у пациентов с доброкачественными образованиями надпочечников и ФАПК смертность была более чем в три раза выше, чем в популяции. Несмотря на незначительное количество летальных случаев, у пациентов с СК после односторонней адреналэктомии 10-летняя выживаемость была ниже, чем в популяции. Было выявлено, что риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) сохранялся даже после адреналэктомии, что обуславливает более высокую смертность у пациентов с СК надпочечниковой этиологии. Аналогичные результаты получили Clayton и соавт., по данным которых наблюдалась повышенная смертность от ССЗ у пациентов с СК даже после достижения биохимической ремиссии [41].

1.2. Этиология и патогенез

1.2.1. Этиология

А. Генетические факторы

Генетические синдромы

МДГН имеет многофакторную природу. В структуре заболеваемости преобладают спорадические случаи, однако, часть пациентов имеет отягощенный семейный анамнез, что, соответственно, предполагает наличие мутации в конкретной зародышевой линии [36].

За последние два десятилетия достижения в области геномики позволили понять генетические основы аденокортикального онкогенеза. Эти молекулярные и генетические изменения были первоначально обнаружены при изучении редких семейных синдромов, таких как синдром МакКьюна – Олбрайта, комплекс Карни, синдром Ли – Фраумени и синдром Беквита – Видеманна. Так, среди aberrаций, описанных при МДГН, выделяют инактивирующие мутации в генах *ARMC5* (16p11.2), *MEN1* (11q13), *FH* (1q42.3e43), *APC* (5q22.2), *PDE11A* (2q31.2), *PDE8B* (5q13.3), активирующую мутацию *GNAS* (20q13) удвоение *PRKACA* (19p13.1) [91].

Редко МДГН является компонентом аутосомно-доминантных множественных опухолевых синдромов, возникающих, как правило, вследствие инактивирующих мутаций зародышевой линии генов-супрессоров опухолей, таких как *MEN1* при множественной эндокринной неоплазии 1 типа (МЭН1), *APC* при семейном аденоматозном полипозе (САП) или *FH* при наследственном лейомиоматозе и почечно-клеточном раке (синдром HLRCC), и активирующей мутации *GNAS1* при синдроме МакКьюна – Олбрайта [67], [227], [68], [30], [189].

Синдром МЭН1 обусловлен инактивирующими дефектами гена супрессора опухоли *MEN1*, который кодирует белок менин и расположен на длинном плече хромосомы 11 (локус 11q13). Известно, что менин участвует в регуляции транскрипции, стабильности генома, клеточного деления и пролиферации, однако его точная роль в онкогенезе до конца не изучена [121], [132], [133]. МЭН1 характеризуется развитием множества опухолей эндокринной системы, прежде всего околощитовидных желез, аденогипофиза и островков поджелудочной железы. Опухоли надпочечников развиваются достаточно часто, в то время как нейроэндокринные опухоли тимуса, легких и желудочно-кишечного тракта встречаются гораздо реже (2–10%) [92]. Неэндокринные проявления данного синдрома включают менингиомы, эпендимомы, липомы, ангиофибромы, коллагеномы и лейомиомы [139], [163], [13], [50], [70], [94]. В ретроспективном исследовании 715 больных с МЭН1 у 146 больных (20,4%) выявлено увеличение надпочечников, двусторонние образования выявлены у 12,5% исследуемых, однако, признаков гормональной активности зафиксировано не было [67].

САП вызывается инактивирующими дефектами зародышевой линии в гене-супрессоре опухоли *APC*, кодирующем белок APC, который содержит мембранный компонент, включает в себя комплекс деградации катенина и действует как негативный регулятор Wnt- β -катенинового сигнального пути. Метилирование промоторов генов *APC* в клетке приводит к снижению функциональности белка APC, и, как следствие, к абберрантному накоплению β -катенина и активации канонического Wnt-сигнального пути [151]. Классический САП характеризуется множественными колоректальными аденомами (> 100), а также полипами фундальных желез желудка и аденомами двенадцатиперстной кишки с высоким риском малигнизации. Внекишечные проявления могут включать как доброкачественные, так и злокачественные новообразования. Доброкачественные

проявления включают аномалии зубов, остеомы, ювенильные ангиофибромы носоглотки, пигментные поражения сетчатки («CHRP – врожденная гипертрофия пигментного эпителия сетчатки»), сальные или эпидермоидные кисты, липомы, фибромы и десмоидные опухоли. Помимо высокого риска развития колоректального рака и аденокарциномы двенадцатиперстной кишки/желудка, у пациентов с САП также диагностируются другие злокачественные опухоли, такие как папиллярный рак щитовидной железы, муцинозная аденокарцинома поджелудочной железы, гепатобластома у детей и опухоли центральной нервной системы. Опухоли надпочечников, а также МДГН, были описаны при САП. В работе Shiroky и соавт. проанализированы данные 756 пациентов с подтвержденным САП. У 48 больных (16%) выявлены образования надпочечников, преимущественно доброкачественной природы (97%). МДГН диагностирована у 11 человек (23%). Медиана диаметра узлов надпочечников при постановке диагноза составила 1,7 см (межквартильный размах (IQR) 1,4–3,0) со средним максимальным диаметром 2,5 см (IQR 1,7–4,1). Информация по гормональной активности образований в данной работе не приводилась [187].

HLLRCC представляет собой синдром, характеризующийся развитием лейомиом кожи, матки (редко лейомиосарком) и почечно-клеточного рака, который связан с генетическими дефектами зародышевой линии в гене *FH*, локализованном на хромосоме 1q42.3-q43 и кодирующим фермент фумаратгидратазу, который входит в состав митохондриального цикла Кребса. Хотя механизм дефектов *FH*, приводящих к HLLRCC полностью неясен, предполагается, что следствием отсутствия гетерозиготности *FH* является полная потеря ферментативной функции фумаратгидратазы. Внутриклеточное накопление фумарата влияет на различные клеточные сигнальные пути, в том числе повышает активность факторов, индуцируемых гипоксией, инактивирует АМФ-активирующую протеинкиназу и вызывает метаболический сдвиг в сторону аэробного гликолиза [160]. При данном синдроме могут встречаться опухоли или гиперпластические неопухолевые поражения надпочечников, включая МДГН и аденокортикальные аденомы, которые могут как продуцировать кортизол, так и быть функционально-неактивными [134], [120], [191], [96]. В исследовании 255 пациентов с HLLRCC у 20 (7,8%) исследуемых было выявлено первичное поражение надпочечников, четверо из них имели двустороннее поражение надпочечников с признаками гиперсекреции кортизола [189].

Синдром МакКьюна –Олбрайта возникает вследствие активирующей мутации гена *GNAS1*, кодирующего альфа-субъединицу G-белка. В результате возникает конститутивная активация стимулирующей субъединицы G-белка (Gas) с неконтролируемым образованием внутриклеточного цАМФ, проявляющаяся автономной гиперфункцией органов-мишеней.

Заболевание, как правило, диагностируется в детском возрасте в связи с яркой клинической картиной. Длительное время классическим диагностическим признаком считалось наличие триады симптомов: фиброзная дисплазия костей, преждевременное половое созревание и пятна на

коже цвета «кофе с молоком». Однако, в настоящее время признано, что данный синдром, помимо классической триады, включает в себя другие проявления, такие как гипофосфатемия, заболевания гепатопанкреатобилиарной системы (неонатальный холестаз, гепатит, гепатоцеллюлярная аденома, очаговая узловая гиперплазия печени, панкреатит, внутрипротоковая папиллярная муцинозная опухоль поджелудочной железы и др.) и болезни сердца [42], [190], [89], [207]. Также при данном синдроме достаточно часто наблюдается повышение выработки/секреции гормонов различными эндокринными железами, приводящее к преждевременному половому созреванию, гипертиреозу, избытку гормона роста, гиперпролактинемии и гиперкортицизму. Гиперсекреция кортизола, при данной мутации, связана с активацией пути цАМФ-зависимой протеинкиназы (ПКА). МДГН в рамках синдрома МакКьюна – Олбрайта манифестирует в раннем детстве и характеризуется тяжелым течением гиперкортицизма. В исследование Brown и соавт. были включены 134 детей с синдромом МакКьюна – Олбрайта, среди которых выявлено 30 случаев СК (22%) в связи с гиперплазией надпочечников. Необходимо отметить, что течение и исход заболевания крайне непредсказуем: шесть пациентов (20,0%), четверо из которых ранее перенесли двустороннюю адреналэктомию, умерли среди 23 (76,7%), известных выживших пациентов 13 человек перенесли оперативное вмешательство, у 10 человек зафиксирована спонтанная ремиссия, из которых двое пациентов ранее получали ингибиторы стероидогенеза (кетоконазол и метирапон) [28].

Мутация гена ARMC5

Генетическое происхождение МДГН было предположено на основании двустороннего характера поражения, описанных семейных случаев и связи МДГН с опухолевыми синдромами. В 2013 г. при полногеномном секвенировании Assie и соавт. впервые описали инактивирующую мутацию в гене-супрессоре опухолевого роста *ARMC5*, расположенном на длинном плече 16 хромосомы (16p11.2) [16]. Генотипирование (как крови, так и опухолевой ткани) у 33 пациентов с МДГН привело к выявлению инактивирующих мутаций в гене *ARMC5* в 55% (18/33) случаев [16]. Впоследствии проведен целый ряд работ с несколькими независимыми когортами пациентов с МДГН, размер выборки которых составлял от 17 до 98 человек. В данных работах исследовали наличие aberrаций гена *ARMC5* как у пациентов как с семейными, так и спорадическими формами МДГН. Частота встречаемости мутации зародышевой линии *ARMC5* составила 25–50% [6], [64], [58], [54], [26], [195], [53], [43], [5], [230]. В различных работах продемонстрировано, что при секвенировании на мутации *ARMC5* нескольких узелков у одного и того же пациента выявили наличие различных соматических мутаций в каждом узле, так в работе Stratakis и соавт. у одного пациента идентифицировано до 15 различных мутаций (1 зародышевая и 14 соматических) [43], [193]. Учитывая удивительно большое количество соматических вариаций *ARMC5*,

обнаруженных у одного пациента, предполагается, что дефицит *ARMC5* вызывает геномную нестабильность. На сегодняшний день идентифицировано около 100 различных мутаций, которые распределены по всей кодирующей последовательности, частых мутаций или «горячих» точек пока не выявлено [193]. Отсутствие «горячей точки» в гене *ARMC5* свидетельствует о том, что для предотвращения развития гиперплазии коркового слоя, оба домена белка *ARMC5* должны сохранять свою функциональную активность.

ARMC5 представляет собой цитозольный белок без ферментативной (каталитической) активности. Его функция и механизм действия на данный момент изучены недостаточно. Известно, что *ARMC5* кодирует белок, содержащий повтор «Броненосца» «Armadillo» (ARM) – домен, который похож на ген β -катенина [84]. Первичная структура белка Armadillo и β -катенина содержит NH₂-терминальный домен, центральный регион, представленный 13 и 12 Arm-повторами, и COOH-терминальный конец (CTD). Соответственно, каждый Arm-повтор включает приблизительно 42 аминокислотных остатка, образующих 3 α -спирали. Все вместе ARM-повторы образуют суперспираль, формирующую длинную положительно заряженную канавку. В конце центрального региона (R12) расположена специфическая консервативная петля (спираль C), упакованная в виде COOH-терминального конца (CTD) и домен ARM-повторов с формированием ядра суперспирали. Вместе CTD и спираль C известны как домен трансактивации, который связывается с множеством регуляторов транскрипции и регуляторами хроматина [87]. Роль β -катенина и белков, содержащих домен ARM, в молекулярной биологии в целом очень универсальна, и включает в себя организацию цитоскелета, обеспечение межклеточных взаимодействий, ядерный импорт белка и др. На тканевом и органном уровнях ARM домен-содержащие белки участвуют в многочисленных процессах, например, в развитии Т-клеток иммунитета, нервной трубки, коры надпочечников, морфогенезе легких, формировании суставов и подавлении роста опухоли. В связи с очень разнообразными функциями ARM домен-содержащих белков, трудно предсказать механизмы их действия. Известно более 240 белков, содержащих домен ARM. Для их упорядочивания, каждый белок получил название ARMC (ARM repeat-containing), за которым следует номер (например, ARMC1, 2, 3 и так далее). *ARMC5* является одним из представителей данного суперсемейства. Предполагалось, что *ARMC5* является геном-супрессором опухоли. В работе Assie и соавт. сообщается, что большинство мутаций, обнаруженных у пациентов с МДГН, были идентифицированы как зародышевые и соматические. Это явление согласовывается с двуударной гипотезой Кнудсона, характерной для генов-супрессоров опухолей. На основании этих данных было высказано предположение, что второе соматическое событие или потеря гетерозиготности (Loss of Heterozygosity, LOH) может способствовать прогрессированию роста узлов надпочечников [16]. Фенотипически мутация *ARMC5* проявляется более агрессивным течением забо-

левания. Наличие данной мутации среди пациентов с МДГН характеризуется достаточно высокой частотой манифестного СК, большим количеством узлов и размерами самих надпочечников, в сравнении с пациентами без генетической мутации *ARMC5* [58], [54]. В работе Ну и соавт. выявлено, что в результате активации клетки транскрипция *ARMC5* и экспрессия белка увеличивается. Индуцированный *ARMC5* формирует димеры или мультидимеры, которые способны взаимодействовать с различными молекулами в путях, регулирующих клеточные циклы и апоптоз, например, *CUL3* для цикла деления клетки и *DAPK1* для апоптоза. Поэтому, в зависимости от количественного содержания *CUL3* и *DAPK1* в разных клетках, *ARMC5* может избирательно взаимодействовать с тем или иным белком, что приводит к обратному эффекту: угнетению клеточной пролиферации и индукции апоптоза. Также в данном исследовании показано, что гапло-недостаточность *ARMC5* приводит к развитию СК у мышей в позднем возрасте через активацию цАМФ-ПКА и Wnt/ β -catenin сигнальных путей [84]. Данная мутация может встречаться у больных с первичным гиперальдостеронизмом (ПГА), в работе Zilbermint и соавт. проанализирована когорта больных с ПГА и выявлена мутация гена *ARMC5* у 10,7 % (6/56) пациентов, при этом наличия гиперсекреции альдостерона у данных больных по данным лабораторных анализов не выявлено [234].

Редкие мутации

К другим вариантам мутаций при МДГН относят мутации зародышевой линии *PDE11A* с распространенностью 18–28%, реже описываются мутации зародышевой линии *PDE8B*, соматические мутации *GNAS* без синдрома МакКьюна – Олбрайта и увеличение числа копий *PRKACA* [213], [7], [124], [177].

Активирующие мутации в гене *MC2R*, кодирующим АКТГ рецептор или рецептор меланокортина 2 (*MC2R*), считаются редким причинным фактором МДГН. Описан один случай МДГН, возникший вследствие двух мутаций в одном и том же аллеле гена *MC2R*, что привело к гиперчувствительности рецептора к АКТГ. В исследовании Swords и соавт. сообщается, что отдельные мутации p.C21R и p.S247G приводят к экспрессии неактивного рецептора, однако, наличие сочетания этих двух мутаций ведет к повышенной экспрессии белка *MC2R*, активации цАМФ/ПКА сигнального пути и ингибированию интернализации *MC2R* [197].

Б. Молекулярные факторы

Аберрантные/эутопические рецепторы, связанные с G-белком или рецепторная гетерогенность образований при МДГН

Изменение синтеза кортизола обусловлено как генетическими мутациями, так и молекулярными изменениями. Механизм, посредством которого стимулируется выработка кортизола при МДГН, несмотря на подавленный уровень АКТГ ранее считался «автономным» процессом. У

подавляющего числа пациентов с МДГН (до 87%) стимуляция стероидогенеза регулируется через связанные с G-белком aberrантные и эутопические рецепторы (GPCR) [125]. К aberrантным относятся рецепторы катехоламинов ($\alpha 2A$ -AR), глюкозозависимого инсулиотропного пептида (ГИП), вазопрессина (V2-3R), серотонина (5-HT7R). В свою очередь рецепторы вазопрессина (V1R), лютеинизирующего гормона (ЛГ)/хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), катехоламинов (β -AR), серотонина (5-HT4R) и лептина в норме экспрессируются в тканях надпочечников (эутопические рецепторы), однако, при МДГН отмечается их гиперэкспрессия [36]. Гормональная гиперсекреция кортизола напрямую связана с активацией пути цАМФ-зависимой протеинкиназы (ПКА) (Рисунок 1).

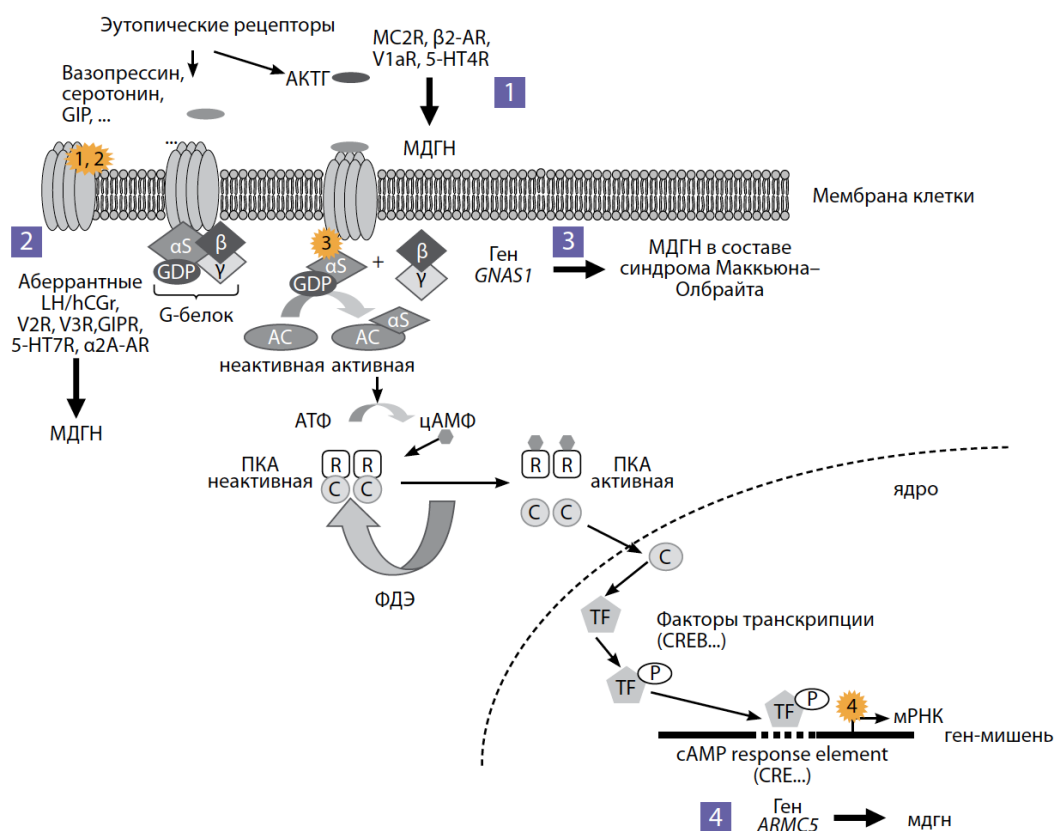


Рисунок 1 – цАМФ/ПКА-сигнальный путь и основные изменения, приводящие к макронодулярной двусторонней гиперплазии надпочечников (адаптировано из (Velayoudom-Cephise F. L., 2016) [211])

Аномальная экспрессия более чем одного типа GPCR была продемонстрирована во многих систематических исследованиях пациентов с субклиническим или манифестным СК. Среди включенных 87 пациентов с МДГН (52 случая имели ФАПК, 35 – манифестный СК) в ходе диагностических стимуляционных тестов у 80% отмечалась aberrантная реакция кортизола по крайней мере на один стимул, среди них большинство (50–86%) имели множественные ответы (до четырех положительных), свидетельствующие о сочетанной экспрессии aberrантных и эутопических GPCR [125], [24], [173], [39], [82], [83], [145]. Ввиду aberrантной экспрессии нескольких

GPCR, трудно сделать какие-либо выводы об относительной важности каждого рецептора по отдельности или возможной взаимосвязи между ними.

Рецепторы глюкозозависимого инсулиотропного пептида (GIPR)

Аберрантные GIPR были первыми и наиболее детально изученными GPCR, активация которых лежит в основе зависимости производства кортизола от приема пищи. На данный момент зафиксировано около 30 случаев ГИП-зависимого СК [26], [52]. Общепринято, что GIPR отсутствуют в здоровой ткани надпочечников как у взрослых, так и на этапах фетального развития. На основании этого, экспрессия GIPR в аденомах и гиперплазированных надпочечниках считается эктопической [103], [172], [152], [34]. В 1992 году независимо друг от друга Lacroix и соавт. и Reznik и соавт. связали повышение уровня кортизола после приема пищи и присутствие GIPR в надпочечниках. Впоследствии это было подтверждено стимуляционной пробой – введением инъекции глюкозозависимого инсулиотропного пептида (ГИП) [103], [172]. В неизменных надпочечниках человека при ПЦР амплификации можно увидеть незначительное повышение *GIPR* мРНК. Это явление связано с экспрессией ГИП в различных типах эндотелиальных клеток, а не в адренокортикальных клетках. В данном случае стимуляция ГИП нормальных клеток надпочечников не приведет к изменениям в синтезе мРНК или увеличению секреции кортизола, которые в свою очередь будут наблюдаться при наличии GIPR-положительных клеток узловой гиперплазии надпочечников.

В отличие от людей, здоровая ткань надпочечников собак, мышей и крыс содержит GIPR [65], [198], [135]. При гибридизации *in situ* обнаружены сигналы GIPR в пучковом и сетчатом слоях надпочечников, что обуславливает повышение базального уровня кортикостерона, но не альдостерона, при стимуляции клеток ГИП [135]. Хотя аберрантные GIPR гораздо чаще встречаются в кортизол-продуцирующих образованиях, происходящих из пучкового слоя надпочечников, описаны случаи их выявления в клубочковом слое у пациентов с первичным гиперальдостеронизмом [171], [111]. Однако, последующие работы Zwermann и соавт. и Ye и соавт. на более широких когортах исследуемых (14 и 10 человек) продемонстрировали отсутствие различий в уровнях экспрессии GIPR в сравнении с контрольной тканью неизменных надпочечников [226], [225].

Прием пищи, а именно содержащиеся в ней липиды и глюкоза, стимулирует высвобождение ГИП – пептидного гормона, который вырабатывается К-клетками кишечника, печенью и эндотелиальными клетками. Количество высвобождаемого ГИП прямо пропорционально зависит от количества еды [214], [31]. Период полувыведения гормона составляет 4 мин. GPCR широко распространены в тканях и экспрессируются различными клетками поджелудочной железы, желудочно-кишечного тракта, эндотелия сосудов, жировой ткани и мозга [198]. В норме, непосредственно после приема пищи, в середине дня, часто наблюдается небольшое повышение уровня

кортизола, следом происходит стимуляция АКТГ содержащимся в пище белком [106]. У пациентов с ГИП-зависимым СК базальный уровень АКТГ подавлен, более того, в утренние часы уровень кортизола в плазме может быть сниженным, но при этом он значительно увеличивается после физиологического повышения ГИП после еды [69].

Механизм до конца неизвестен, однако, наиболее распространенная гипотеза состоит в том, что активация GIP/GIPR частично или полностью перекрывает сигнальный путь АКТГ/MC2R. Согласно этому предположению, ГИП, взамен АКТГ, будет стимулировать секрецию кортизола клетками пучковой зоны коры надпочечников. Также, весьма вероятно, что активация аберрантного GIPR не только запускает избыточную выработку гормонов, но и способствует пролиферации клеток надпочечников и, соответственно, росту узлов [114],[171]. В работе Antonini и соавт. выявлено, что уровни мРНК цАМФ-чувствительных транскрипционных факторов (ТФ) (т.е. CREB и CREM) и стероидогенных ферментов (т.е. *Nur77/NGFI-B*, *DAX-1* и *Sf1*) были ниже в GIPR-экспрессирующих узлах при МДГН, чем в нормальных надпочечниках [9]. В то же время, Lebrethon и соавт. показали наличие индуцированных транскриптов стероидогенных факторов и ферментов (т.е. *CYP17A1*, *3 β HSD*, *CYP11A1*) у пациентов ГИП-зависимым СК [113]. Это объясняет тот факт, что длительное время у значительной части пациентов может наблюдаться уровень кортизола ниже ожидаемого, при этом фиксируется повышенная секреция предшественников стероидов. Несмотря на неэффективный стероидогенез, секреция кортизола увеличивается пропорционально увеличению массы надпочечников, и это объясняет обычно вялотекущее течение, ведущее к развитию СК в более позднем возрасте, когда надпочечники значительно увеличены.

GIPR-опосредованная пролиферация может быть связана с асинхронным образованием узлов при МДГН. Пролиферация клеток и образование узлов при ГИП-зависимом СК связаны с активацией группы мультифункциональных внутриклеточных сигнальных путей, содержащих митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК) и контролирующих транскрипцию генома, метаболизм, пролиферацию, апоптоз и другие процессы [34]. Однако, это явление не исключает наличия вторичного генетического события, которое переключают неопластические клетки на более быстрорастущий фенотип.

α и β -адренорецепторы

Катехоламины (адреналин и норадреналин) секретируются хромаффинными клетками мозгового слоя надпочечников, а также в синапсах нервных волокон. Однако, данные клетки можно обнаружить не только в мозговом веществе, где они, как правило, расположены компактно, но также во всех слоях коркового вещества, где они формируют мелкие гнездовые структуры. Хромаффинные клетки могут иметь вид лучей, пронизывающих всю толщу коркового слоя, или же быть похожими на островковые структуры, окруженные со всех сторон стероидсекретирующими клетками. Тесное расположение двух данных типов эндокринных клеток надпочечников дает

большую возможность для ауто- и/или паракринных взаимодействий [23]. Было предположено, что катехоламины, вырабатываемые хромаффинными клетками, оказывают влияние на стероидогенез, в частности во время стресса и воспаления.

Адренорецепторы (AR) подразделяются на α ($\alpha 1A$, $\alpha 1B$, $\alpha 1C$ и $\alpha 2A$, $\alpha 2B$, $\alpha 2C$) и β ($\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 3$). В норме все подтипы $\alpha 2$ -AR ($\alpha 2A$, $\alpha 2B$, $\alpha 2C$) экспрессируются в сосудах и многих других тканях, а также обнаруживаются в мозговом слое надпочечников. В симпатических нейронах $\alpha 2$ -адренорецепторы регулируют высвобождение норадреналина по принципу отрицательной обратной связи. Все три подтипа $\alpha 2$ -AR могут способствовать пресинаптической регуляции высвобождения катехоламинов из адренергических окончаний однако, физиологически преобладающий подтип рецепторов, контролирующий высвобождение норадреналина, является $\alpha 2A$ -AR [149]. В неизменной ткани коры надпочечников $\alpha 2A$ -AR полностью отсутствуют. В исследовании Assie и соавт. проанализировано 18 образцов тканей надпочечников при МДГН, выявлено что в 72% (13/18) случаев выявлялась патологическая экспрессия вышеуказанных рецепторов, более того отмечено наличие $\alpha 2A$ -AR в гиперпластических узлах и их отсутствие в окружающей ткани [15].

Наличие β -AR в адренокортикальном слое впервые было зафиксировано в 1971 году. Schorr и соавт. исследовали причину потери специфичности рецепторов к АКТГ в опухолевой ткани надпочечников, в ходе данной работы была выдвинута теория о возможном наличии иных рецепторов, активирующих аденилатциклазу. Так, при исследовании АКР у мышей была обнаружена стимуляция стероидогенеза адреналином и норадреналином [183], [182]. В работе Kostі и соавт. подтверждено, что в клетках линии H295R (АКР у человека) экспрессируются все подтипы β -AR [100].

В человеческом организме $\beta 1$ -AR локализируются в сердце, жировой ткани и юкстогломерулярном аппарате нефронов почек. По данным литературы, на данный момент не описано случаев изолированной секреции $\beta 1$ -AR в надпочечниках при МДГН, как правило наблюдается сочетанная секреция $\beta 1$ -AR и $\beta 2$ -AR.

В свою очередь $\beta 2$ -AR, кроме сосудов, выявлены во многих органах, таких как бронхи, матка, мочевого пузырь, кишечник. В хромаффинных клетках мозгового слоя надпочечников данные рецепторы были обнаружены в работе Cortez и соавт. [44]. В последующих работах было подтверждено наличие данных рецепторов в адреналовых образованиях коркового происхождения (кортикостеромах, альдостеромах, АКР), однако никаких признаков их наличия в здоровой ткани коры надпочечников человека получено не было [80], [95], [44], [137], [19].

Spagnolo и соавт. выявили экспрессию $\beta 2$ -AR не только в мозговом, но и в корковом слое надпочечников, что позволило переклассифицировать вышеуказанные рецепторы из aberrantных в эутопические. Авторами было проведено аутопсийное и ИГХ-исследование 48 препаратов

надпочечников. В ходе исследования было обнаружено, что иммунореактивность к $\beta 2$ -АР наблюдалась во всех зонах надпочечников, более того она превалировала в разных зонах в зависимости от причины смерти. Результатом данной работы было построение гипотезы о дополнительной активации стероидогенеза через адренергическую систему в ответ на стресс [192].

Рецепторы вазопрессина

Одними из самых распространённых рецепторов надпочечников являются AVPR. По данным различных источников, избыточная секреция кортизола вследствие стимуляции вазопрессином наблюдается у 27–64% пациентов с СК надпочечникового генеза [173], [82], [11], [194]. Среди них описаны достаточно большое количество семейных случаев [146], [115], [62], [212].

AVPR обнаруживаются в многочисленных органах, в том числе головном мозге. Вазопрессин выполняет три основные физиологические функции: сокращение гладкой мускулатуры сосудов, антидиурез в почках и стимуляцию секреции АКТГ передней долей гипофиза. Эти разные эффекты обеспечиваются тремя различными подтипами рецепторов AVPR – V1 (или V1a), V2 и V3 (или V1b). Эти рецепторы являются классическими мембранными рецепторами, которые связаны с гетеротримерными G-белками, однако, они активируют как минимум три различных сигнальных пути: аденилатциклазный путь для рецептора V2, инозитолтрифосфатную систему и фосфолипазно-кальциевый механизм передачи гормонального сигнала для рецепторов V1 и V3.

Существует множество гипотез о механизме стимуляции стероидогенеза через AVPR. Первоначально предполагалось, что в связи с коэкспрессией различных AVPR и их лигандов во многих органах, таких как яичники, яички, поджелудочная железа, гладкомышечные клетки сосудов, мозговой слой надпочечников, этот пептид может действовать на синтез кортизола, как и в случае α - и β -адренорецепторов, через аутокринный/паракринный механизм. В исследовании на крысиных надпочечниках были выявлены признаки синтеза и секреции вазопрессина в мозговом слое надпочечников. Эта секреция стимулировалась нейротрансмиттерами (ацетилхолин) или нейропептидами, такими как кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ), который был также выявлен в мозговом веществе. В связи с экспрессией V3 хромафинными клетками, происходит стимуляция синтеза катехоламинов, которая, может в свою очередь влиять на синтез кортизола адренокортикальными клетками [72].

Поскольку экспрессия гена V1-AVPR происходит в различных типах клеток организма человека, в частности, в сосудах, необходимо было доказать или опровергнуть их присутствие в клетках коры надпочечников. В двух исследованиях *in vitro* на корковых опухолях надпочечников человека было показано наличие V1-AVPR в опухолевой ткани. Ввиду этого было предположено, что вазопрессин может напрямую стимулировать синтез стероидов как при патологических, так и при физиологических состояниях [12], [150], [105]. В дальнейших работах было продемонстрировано, что активация V1-AVPR приводит к умеренному увеличению стероидогенеза,

которое подтверждалось дозозависимыми реакциями секреции кортизола в ответ на стимуляцию. Наблюдаемый значительный стероидогенный ответ у пациентов с вазопрессин-чувствительным СК представляет из себя аберрантный ответ эутопических рецепторов, у части пациентов он обусловлен избыточной экспрессией мембранных рецепторов, однако, у другой части больных данного явления нет, что возможно обусловлено более эффективным связыванием рецептора с внутриклеточными путями т.е. гиперчувствительностью V1-AVPR [39]. Механизмы повышения активности вазопрессиновой рецепторно-эффекторной системы пока неизвестны [107].

В работе Bertherat и соавт. продемонстрировано наличие многочисленных клеток в гиперпластических узлах при МДГН, продуцирующих вазопрессин, что доказывает что эутопические V1-AVPR и эктопические V2-AVPR опосредуют прямую интраадренальную вазопрессиную стимуляцию стероидогенеза через аутокринный/паракринный механизмы. Более того, известно что вазопрессин увеличивает пролиферативную активность различных клеток организма [206], [38], [109]. Следуя этим данным, локально продуцируемый в узлах МДГН вазопрессин, может стимулировать пролиферацию стероидогенных клеток посредством активации V1-AVPR и, соответственно, приводит к гиперпластическим изменениям в узлах МДГН.

V2- и V3-AVPR признаны аберрантными рецепторами пучковой зоны коры надпочечников: по данным многочисленных работ признаков их наличия в нормальных клетках надпочечников не получено [73], [146], [115], [62], [212], [150]. Однако в исследовании Arnaldi и соавт. было обнаружено определенное, хотя и очень низкое, значение ПЦР-сигнала для рецептора V2 как в нормальной ткани, так и в клетках большинства опухолей. В последующих работах, эктопическая экспрессия V2- и V3-AVPR была зарегистрирована *in vitro* в тканях надпочечников с МДГН; значимость этого явления неясна, поскольку отсутствовало патологическое нарастание уровня кортизола при его стимуляции десмопрессином [24], [115], [63].

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

В человеческом организме LH/hCGR обнаруживаются преимущественно в тканях половых желез, но они также присутствуют и в других органах, таких как матка, мозг и гипоталамус. Считается, что LH/hCGR конститутивно экспрессируются в сетчатой зоне коры надпочечников и опосредуют синтез дегидроэпиандростерона в клетках надпочечников плода человека [162], [59].

Первые данные, указывающие на прямое влияние гонадотропинов на ткань надпочечников, были опубликованы еще в шестидесятых годах 20-го века. В представленных работах были выявлены морфологические изменения в коре надпочечников крыс под воздействием экзогенно введенного ЛГ [176], [144]. В работе Rilianawati и соавт. был выявлен высокий уровень функциональных LH/hCGR в узлах надпочечников, в результате чего было предположено, что данные

рецепторы могут выступать в качестве стимулятора опухолевого роста при их эктопической экспрессии и стимуляции гормоном-лигандом [175]. Однако дальнейшие исследования показали наличие LH/hCGR не только в кортизол-продуцирующих образованиях, но и в неизмененных тканях надпочечников, свидетельствующее об их не аберрантной, а эутопической природе [106], [162], [18], [99].

Впервые ЛГ/ХГЧ-зависимая МДГН была идентифицирована у женщины с транзиторным, циклическим СК, который развивался во время многократных беременностей и приобрел постоянный характер течения в постменопаузальном периоде, вследствие устойчивого увеличения секреции ЛГ. В литературе приведено 7 случаев индуцированного беременностью транзиторного гиперкортицизма. Тяжелый гирсутизм и/или акне наблюдались у всех пациенток, а значительная гипокалиемия была обнаружена в 5 из 7 опубликованных случаях [168]. Транзиторный, независимый от герминальных и/или соматических мутаций, индуцированный беременностью СК был обусловлен стимулированной ХГЧ трансформацией LH/hCGR-положительных недифференцированных субкапсулярных клеток (предположительно предшественников надпочечников) в LH/hCGR-положительные гиперпластические клетки коры. Эти клетки реагировали на стимуляцию ХГЧ секрецией кортизола [168]. Несмотря на отсутствие лиганда, данные ткани сохраняли способность к аберрантной экспрессии LH/hCGR и могли реагировать на стимул. В данном случае, у пациентки секреция кортизола стимулировалась экзогенным введением ГнРГ, ХГЧ и рекомбинантным ЛГ. Введение агониста ГнРГ длительного действия (ацетат лейпролида) приводил к подавлению секреции эндогенного ЛГ и нормализации продукции кортизола [104].

Предполагалось, что ЛГ играл роль в патогенезе МДГН. В ходе исследования на трансгенных мышцах Кего и соавт. выявили, что конституциональная гиперпродукция ЛГ приводит к развитию поликистозных яичников и МДГН с СК [97]. В большинстве случаев ЛГ/ХГЧ-зависимый СК обнаруживался у больных женского пола. Первоначальная патофизиологическая концепция заключалась в том, что ЛГ/ХГЧ уровни должны достигать определенного порога, чтобы оказывать стимулирующее влияние на синтез кортизола, как это происходит во время беременности или в постменопаузе. Однако ЛГ/ХГЧ-зависимый СК также был описан у женщин и в пременопаузе, что опровергает данную теорию и указывает на то, что низконормальные уровни могут также влиять на выработку кортизола [59]. Доказательством этому была работа Mazzuso и соавт. с экспериментальной животной моделью. В ходе эксперимента мышам после адреналэктомии была произведена трансплантация нормальных клеток надпочечников с ретровирус-опосредованной экспрессией LH/hCGR, результатом чего развились гиперпластические изменения в надпочечниках, сопровождающиеся ЛГ/ХГЧ-зависимым СК [137]. Таким образом, можно констатировать, что супрафизиологические уровни ЛГ/ХГЧ не являются предпосылкой для развития ЛГ/ХГЧ-зависимой МДГН при наличии сверхэкспрессии LH/hCGR.

Другая экспериментальная модель животных включает стерилизованных хорьков. СК на фоне вторичных гиперпластических процессов (односторонних аденом, МДГН) – частая находка у хорьков, перенесших гонадэктомию. В данном случае стимуляция ГнРГ приводит к увеличению выработки стероидных гормонов, одновременно с этим, при ИГХ было выявлено увеличение количества LH/hCGR [188]. Таким образом, вызванное гонадэктомией повышение ЛГ, привело к экспрессии надпочечниковых рецепторов и ЛГ/ХГЧ-зависимому СК. В последующих экспериментах было констатировано успешное лечение таких хорьков ацетатом лейпролида [217].

Причиной гиперкортицизма при МДГН может быть увеличение экспрессии LH/hCGR и/или нарушение одного из промежуточных звеньев внутриклеточного сигнального пути, регулирующего процесс стероидогенеза от этапа связывания лиганда с LH/hCGR до непосредственного биосинтеза стероидных гормонов. Механизмы, лежащие в основе повышенной экспрессии гена рецептора ЛГ, включают генную перестройку, приводящую к слиянию этого гена с адренокортикальным промотором и/или аномалии транскрипционных факторов, их ко-активаторов или компрессоров, вызванные мутацией [106], [59]. В данном случае ХГЧ, действуя через LH/hCGR, стимулирует выработку дегидроэпиандростерона сульфата клетками надпочечников человека [59].

Гормональные реакции надпочечников на ЛГ или ХГЧ часто связаны с аномалиями экспрессии аберрантных рецепторов других гормонов, таких как серотонин или ГИП, что позволяет предположить, что в основе патогенеза лежат изменения факторов транскрипции, регулирующие гены нескольких рецепторов [29].

Рецепторы серотонина

Целое семейство серотониновых рецепторов (5-HTR 1–7) представляет собой различные ионотропные и метаботропные рецепторы, обнаруживающиеся в различных органах и тканях. В частности, 5-HTR4 и 5-HTR7 относятся к метаботропным рецепторам, которые, связываясь с G-белком, отвечают за повышение клеточных уровней цАМФ.

Серотонин (5-гидрокситриптамиин) способен оказывать влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось различными путями. Серотонин вызывает высвобождение КРГ из нейронов гипоталамуса и стимулирует секрецию АКТГ. В частности, в ряде наблюдений продемонстрировано, что центральные серотонинергические пути участвуют в циркадном ритме АКТГ и активируют гипоталамо-гипофизарную систему (ГГС) в ответ на стресс. Типы рецепторов, участвующих в контроле секреции АКТГ с помощью 5-НТ, могут варьироваться в зависимости от видов млекопитающих. Так, у крыс к ним относятся 5-HTR1A/1B, 5-HTR2A/2C и 5-HTR3 подтипы, а у человека эффект серотонина осуществляется через 5-HTR1 и 5-HTR2 [184].

В надпочечниках человека серотонин, высвобождаемый субкапсулярными тучными клетками, стимулирует выработку кортикостероидов посредством паракринной регуляции через 5-

НTR4, которые локализованы преимущественно в клубочковой зоне. В результате серотинин является мощным стимулятором секреции альдостерона и оказывает слабое влияние на секрецию кортизола. Введение агонистов 5-НTR4 у здоровых лиц сопровождается повышением уровня альдостерона в плазме без каких-либо изменений концентрации кортизола в плазме. Однако, в гиперплазированных узлах и корковых опухолях надпочечников, сопровождающихся гиперсекрецией кортикостероидов, обнаруживают различные клеточные и молекулярные дефекты, которые усиливают интраадrenalовое серотонинергическое воздействие [117].

Первый случай аномального ответа кортизола плазмы на введение цизаприда был описан в 1999 г. Lacroix и соавт. у пациента с МДГН [104]. Аналогичные наблюдения были впоследствии описаны у пациентов с МДГН или кортикостеромами с субклиническим или манифестным ГК [24], [173], [19], [59], [32], [130], [45]. Выработка кортизола на введение агонистов 5-НTR (метоклопрамид и цизаприд) была обнаружена, несмотря на подавленный уровень АКТГ, что указывает на прямое действие серотонина на гиперплазированную ткань надпочечников. В соответствии с полученными данными, было предположено, что серотонин стимулирует секрецию кортизола *in vitro* в зависимости от количества рецепторов 5-НTR4 [19].

В свою очередь, Louiset и соавт. в своем исследовании у 3 пациентов с МДГН выявили наличие aberrантных 5HT7R в стероидогенных клетках измененной коры надпочечников, а также в кровеносных сосудах. Первоначально, целью данной работы было изучение фармакологических свойств и механизмов сигнальной трансдукции 5НTR. Однако, в ходе данного исследования впервые было выявлено, что несмотря на повышение уровня кортизола в крови на фоне введения агониста 5НTR4 (цизаприд), он не влиял на продукцию кортизола адренокортикальными клетками при повторении эксперимента *in vitro*. Эти результаты показывают, что аномальная реакция кортизола *in vivo* на цизаприд не была следствием прямого действия препарата на клетки надпочечника, а скорее была результатом его непрямого воздействия. Наличие серотониновых рецепторов в сосудах, также свидетельствует в пользу непрямого воздействия серотонина на синтез кортизола стероидогенными клетками за счет увеличения его в кровотоке. Кроме этого, в данной работе приведены данные, свидетельствующие о том, что активация нелегитимных рецепторов надпочечников, в частности 5-НТ7R и GIPR, приводит к усилению тока кальция Т-типа в клетку через активацию пути цАМФ/ПКА и/или снижение транзитных калиевых токи. Взаимная модуляция потенциал-активируемых кальциевых и калиевых токов может вызвать увеличение кальция в клетке, что опосредованно ведет к увеличению секреции кортизола [127].

Более того, опосредованный кортикотропный эффект серотонина на ткани при МДГН может осуществляться через регуляцию внутриадrenalового синтеза АКТГ. Фактически, было показано *in vitro*, что серотонин стимулирует высвобождение АКТГ из клеток надпочечников, ко-

торые аномально экспрессируют проопиомеланокортин в тканях МДГН [127], [129]. Формирование аутокринных/паракринных серотонинергических стимуляторных петель нельзя рассматривать исключительно как патологический процесс. Интересно, что недавние данные, полученные в исследованиях на надпочечниках крыс, указывают, что длительный стресс приводит к экспрессии 5-HT₇R 4-го и 7-го типов [122], [66]. Не исключается, что изменения тканей надпочечников при МДГН могут представлять собой аномальную активацию физиологического механизма, который, вероятно, направлен на потенцирование глюкокортикоидного ответа на стресс [118]. Так, основной вывод исследования Saroj и соавт. заключался в том, что повышение уровня циркулирующего кортикостерона в результате 14-дневного введения препарата увеличивало экспрессию 5-HT₇R в коре надпочечников относительно соответствующих образцов контрольной ткани (животные не получавших препаратов). При ПЦР-РВ данный феномен визуализировался как значительное повышение уровня 5-HT₇R-подобной иммунореактивности в клетках клубочковой зоны коры надпочечников, а также во внешней и внутренней пучковой зоне наряду с повышением уровня белка 5-HT₇R и уровня мРНК во всем надпочечнике. Однако, отсутствие сенсibilизированной реакции кортизолового ответа на хронический иммобилизационный стресс (вызванный ограничениями стресс) у мышей, получавших кортикостерон, означает, что помимо адренокортикальных 5-HT₇R, существуют другие медиаторы и/или механизмы, которые задействованы в хронической стресс-индуцированной эндокринной дисрегуляции стероидогенеза. Требуется дополнительные исследования, необходимые для выяснения молекулярных механизмов, лежащих в основе аномальной АКТГ-независимой секреции глюкокортикоидов, в которой, по-видимому, лишь частично играют роль адренокортикальные 5-HT₇R [181].

Внутриадренальная продукция АКТГ

Вызывает особый интерес дополнительный механизм МДГН, который включает интраадренальную секрецию АКТГ самими стероидпродуцирующими клетками.

Первоначально было выявлено, что хромаффинные клетки способны экспрессировать ген, кодирующий предшественник АКТГ проопиомеланокортин (ПОМС), и синтезировать определяемые количества АКТГ [52]. В ходе последующих исследований была обнаружена эктопическая экспрессия гена *ПОМС* стероидогенными клетками коры надпочечников МДГН. При ИГХ исследовании коры тканей МДГН было выявлено наличие АКТГ-иммунореактивности в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников, как отмечалось ранее, а также в некоторых адренокортикальных клетках. Эти адренокортикальные клетки обладали обычными характеристиками стероидогенных клеток и экспрессировали несколько маркеров стероидогенной дифференцировки, включая стероидогенный фактор 1 (SF1), рецептор SRB1 (Scavenger receptor class B type 1) и 17-гидроксилазу. Таким образом, эти клетки представляют собой подкатегорию стероидогенных клеток коры надпочечников, которые аномально экспрессируют АКТГ. Необходимо

также отметить, что помимо экспрессии маркеров стероидогенной дифференцировки, данные клетки окрашивались антителами, направленными против инсулиноподобного маркера клеток Лейдига 3 (INSL3), что указывает на то, что синтез АКТГ может быть результатом неправильной гонадоподобной дифференцировки некоторых клеток коры надпочечников [129].

В работе Lefebvre и соавт. внимание было направлено на изучение интраадrenalовой продукции АКТГ и механизмов, вследствие которых субпопуляция стероидогенных клеток аномально вырабатывало АКТГ. В данной работе была выдвинута гипотеза о том, что внутринадпочечниковая гиперпродукция АКТГ может являться первопричиной возникновения гиперплазии надпочечников и гиперкортицизма вследствие ряда фактов. Во-первых, при морфологическом и ИГХ исследованиях тканей было выявлено, что узелки гиперплазии были сосредоточены вокруг скопления АКТГ-содержащих клеток. Во-вторых, АКТГ, полученный из тканей МДГН, имел одинаковые хроматографические характеристики с биоактивным АКТГ гипофиза. Более того, концентрация АКТГ в внутринадпочечниковом интерстициальном пространстве была в 1000 раз больше, чем нормальные уровни данного пептида в плазме. Как показали результаты исследования *in vivo* с синтетическим производным АКТГ – косинтропином, ткань коры надпочечников была чрезвычайно чувствительна к АКТГ. Разница между высоким внутринадпочечниковым уровнем АКТГ и его низкой концентрацией в крови указывает на то, что АКТГ быстро и активно метаболизируется *in situ* после связывания со своим мембранным рецептором на адренокортикальной клетке. Это наблюдение также объясняет, почему интраадrenalовая продукция АКТГ недостаточна для повышения уровня АКТГ в плазме.

Как было упомянуто ранее, аберрантные рецепторы могут также регулировать паракринную секрецию АКТГ, создавая аутокринную/паракринную патогенетическую «петлю», которая способствует гиперпластическим изменениям в надпочечниках и избыточной секреции стероидов [116]. В работе Louiset и соавт. выявлено, что некоторые лиганды аберрантных мембранных рецепторов, т. е. 5-HT₂R, LH/hCGR и GIPR, стимулируют высвобождение АКТГ из культивируемых в искусственной среде клеток (эксплантатов) МДГН, увеличивая при этом амплитуду импульса, но не влияя на его частоту. В результате этого было предположено, что активация мембранных рецепторов может стимулировать выработку кортизола посредством двух механизмов, включая прямое влияние лиганда на стероидогенез через GPCR и опосредованное действие через активацию интраадrenalовой секреции АКТГ. В соответствии с этой гипотезой было замечено, что при ГИП-зависимом СК, антагонисты MC2R снижают амплитуду кортизолового ответа на ГИП. Таким образом, внутринадпочечниковый АКТГ является промежуточным звеном и усилителем действия аберрантных и аутопических GPCR в тканях МДГН [129].

В. Патогенез

В неизменной коре надпочечников АКТГ действует в качестве главного регулятора гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) оси и стероидогенеза. АКТГ связывается с высоко-специфическими мембранными рецепторами меланокортина 2 (MC2R), расположенными на поверхности стероидогенных клеток пучковой зоны надпочечников. MC2R является самым маленьким GPCR и принадлежит к семейству меланокортиновых рецепторов (1–5-го типов), которые связываются с различными производными РОМС. Было установлено, что для перемещения из эндоплазматического ретикулума, экспонирования на поверхности клетки и адекватной работы MC2R необходимо наличие небольшого трансмембранного белка (MRAP). При исследованиях на животных моделях было показано, что MRAP экспрессируется преимущественно в пучковой зоне надпочечников и играет роль в процессе стероидогенеза [143], [71].

Ген *MC2R* кодирует 297-аминокислотный белок, содержащий семь трансмембранных доменов, которые образуют сайт связывания лиганда. АКТГ стимулирует экстернализацию MC2R в коре надпочечников. Активирующая мутация гена *MC2R* увеличивает экспрессию белка MC2R, соответственно, активирует цАМФ/ протеинкиназный А (ПКА) путь и ингибирует интернализацию MC2R [196]. Это приводит к ФАПК надпочечников. Более того, активация MC2R в надпочечниках индуцирует выработку факторов, влияющих на рост надпочечников и их кровотоков. Таким образом, помимо прочего, АКТГ стимулирует внутринадпочечниковую продукцию эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) и сосудорасширяющих эпоксиэйкозатриеновых кислот (EET) [119].

Точно установлено, что в коре надпочечников АКТГ оказывает два разнесенных во времени эффекта на стероидогенез [101]. Первый – кратковременный, представляет собой гормональный сигнал, который в течение нескольких минут приводит к стимуляции стероидогенеза через цАМФ/ПКА путь [49]. Продолжительное воздействие АКТГ приводит к стимуляции биосинтеза различных ферментов стероидогенеза, что в свою очередь считается отдаленным эффектом действия данного тропного гормона [220].

Пролиферация и функциональная дифференцировка глюкокортикоидпродуцирующих клеток также происходит через изменение G-связанного белка в результате связывания лиганда с GPCR. Активация цАМФ/ПКА сигнального пути, вызванная связыванием аберрантных и эутопических рецепторов GPCR с соответствующими лигандами, в значительной степени способствует аномальному производству стероидных гормонов.

G-белки имеют гетеротримерную структуру и состоят из 3 субъединиц: большой α субъединицы, меньших β - и γ -субъединиц. Связывание агониста (гормона, нейромедиатора и др.) с соответствующим рецептором приводит к белок-белковому взаимодействию между рецептором и G-белком и катаболизирует гидролиз гуанидиндифосфат (ГДФ) на гуанозинтрифосфат (ГТФ),

переводя Gs в активную форму- отсоединение недиссоциирующего $\beta\gamma$ -комплекса от α -субъединицы [221]. После чего активный Gs α перемещается к ближайшей молекуле аденилатциклазы. Стимулирующее действие Gs α является самолимитируемым процессом и зависит от скорости диссоциации ГТФ от α -субъединицы. Связывание аденилатциклазы стимулирует циклазу катализировать синтез цАМФ, увеличивая концентрацию цАМФ в цитозоле. Циклический АМФ в свою очередь, в результате аллостерической регуляции, активирует цАМФ-зависимую ПКА, которая катализирует фосфорилирование других белков. Неактивная форма ПКА содержит в себе две каталитические субъединицы (C) и две регуляторные субъединицы (R). Известны два изомера ПКА (1-й и 2-й типы), а также 4 изоформы регуляторной субъединицы (R1 α , R1 β , R2 α , R2 β) и 3 изоформы каталитической субъединицы (C α , C β , C γ). Каждую изоформу кодирует собственный ген. Соответственно, три гена кодируют каталитические субъединицы ПКА (*PRKACA*, *-CB* и *-CG*) и четыре гена кодируют регуляторные субъединицы (*PRKAR1A*, *PRKAR1B*, *PRKAR2A* и *PRKAR2B*) [211]. Связывание цАМФ с R-субъединицами и высвобождает каталитические C-субъединицы ПКА, которые проникает в ядро клетки, где она стимулирует транскрипцию генов-мишеней, вовлеченных в биосинтез кортизола и роста клетки. После чего цАМФ гидролизуется фосфодиэстеразой (ФДЭ), при этом происходит воссоединение каталитических и регуляторных субъединиц ПКА, соответственно, ее дезактивации [141].

Генетические мутации вызывают нарушение в регуляции активности цАМФ/ПКА сигнального пути, приводя к чрезмерной активации ПКА и/или снижению активности ФДЭ, результатом чего является ФАПК. Так, активирующая мутация в гене альфа-субъединицы G-белка (*GNAS*) приводит к конститутивной активации рецептора, а инактивирующие мутации в генах *PDE11A4* и *PDE8B*, кодирующие ФДЭ, нарушают процесс гидролиза цАМФ и препятствуют инактивации ПКА. В свою очередь, сверхэкспрессия *PRKACA* подавляет ингибирующую способность регуляторных единиц (R), тем самым вызывая цАМФ-независимую активацию ПКА [142].

Активация ПКА приводит к немедленному перемещению холестерина из цитоплазматического компартмента на внутреннюю мембрану митохондрий, где находится цитохром p450_{ssc} (десмолаза), который катализирует первый этап стероидогенеза или расщепление боковой цепи холестерина (превращение в прегненолон). Несмотря на большое количество исследований, механизмы транспорта холестерина в митохондрии до сих пор до конца не выяснены. В настоящее время известно, что этот транспорт опосредуется комплексом белков, наиболее важными из которых являются стероидогенный острый регуляторный белок (StAR), периферический рецептор бензодиазепина (PBR) и AAA-домен, содержащий белок 3 [88].

Быстрая регуляция стероидогенеза в ответ на стимул состоит из активации двух компонентов: 1) гидролиз эфиров холестерина, катализированный гидролазой нейтральных эфиров холестерина (СЕН), гормонозависимой липазой (HSL) и рядом других ферментов; 2) регулирование

экспрессии белка StAR. Активация транскрипции гена *StAR* происходит очень быстро (от 1 до 2 часов), в сравнении с генами, кодирующими стероидные ферменты (от 15 до 36 часов) [90]. Несколько транскрипционных факторов могут влиять на транскрипцию промотора гена *StAR*, среди них можно выделить транскрипционные факторы CREB (CRE-binding protein), которые взаимодействуют с цАМФ-чувствительным мотивом 5'-TGACTGATGA-3, который также носит название CRE-элемент (cAMP response element) и обнаружен в промоторе гена *Star*. Транскрипционные факторы CREB и CREM (CRE-response element modulator) фосфорилируются PKA в положениях Ser133 и Ser117, соответственно, это приводит к активации коактиватора транскрипции CREB-связывающего белка (CBP) и его гомолога p300, которые обладают ацетилтрансферазной активностью. В результате этих взаимодействий происходит усиление экспрессии гена *StAR*. Вторым мотивом в промоторе гена *StAR* является CRE2/AP1-элемент, с которым связываются транскрипционные факторы AP1-семейства (cFos, FosB, Fra1, Fra2 и Jun (cJun, JunB, and JunD) и семейства ATF (CRE-activating transcription factor). Участок связывания факторов CREB/ATF/AP1 также способен взаимодействовать с транскрипционными факторами, такими как CCAAT-связывающий белок (C/EBP α и C/EBP β), GATA связывающий белок (GATA-4), фактор стероидогенеза 1 (SF-1). Было показано, что уровень C/EBP β повышается под действием ЛГ. Ингибирование транскрипции гена *StAR* опосредуется DAX-1. DAX-1 действует как негативный регулятор стероидной продукции в клетках надпочечников. Связывание DAX-1 с промотором гена, кодирующего *StAR* белок, вызывает снижение экспрессии *StAR* и блокаду стероидогенеза. Также, DAX1 влияет корепрессоры ядерных рецепторов и подавляет транскрипционную активность ядерного рецептора SF1 [235].

Долгосрочные эффекты активации стероидогенеза опосредуется специфическими факторами транскрипции SF-1, Sp1, CREB и ATF-1. Ядерный рецептор SF-1 играет центральную роль в экспрессии и регуляции ферментов стероидогенеза.

Существует две основные категории ферментов стероидогенеза: цитохром P450-ферментов и гидроксистероиддегидрогеназы. Цитохромы P450-ферменты входят либо в состав комплексов мембранных ферментов митохондрий (к ним относятся 20-22 гидроксилаза (CYP11A), 11 β -гидроксилаза (CYP11B1), альдостерон синтаза (CYP11B2) либо в эндоплазматическом ретикулуме (микросомальные – 17 α -гидроксилаза (CYP17), ароматаза (CYP19), 21-гидроксилаза (CYP21)) называемые стероидгидроксилазами. Они катализируют реакции гидроксирования и отщепления боковой цепи стероидов. В свою очередь к дегидрогеназам относят 3 β -гидроксистероиддегидрогеназа (3 β HSD), 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа или 17-кетостероид редуктаза (17HSD). Изоформы 3 β HSD экспрессируются клеточно- и тканеспецифично, так 3 β HSD I обнаруживается в плаценте, коже и тканях молочной железы, тогда как 3 β HSD II экспрессируется в надпочечниках, яичниках/яичках и катализирует образование прогестерона из прегненолона [165].

Путь сигнальной передачи Wnt/ β -catenin

В нормальных клетках существует сигнальный каскад Wnt, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку и развитие клеток. Физиологически Wnt/ β -катениновый сигнальный каскад активируется путем связывания внеклеточных лигандов (молекулами Wnt) с frizzled-рецепторами (Fzd), которые находятся на поверхности клетки. Без влияния белков Wnt в клетке формируется β -катениндеструкционный комплекс – цитозольный белковый комплекс, включающий белок Axin, APC, CK1 (casein kinase 1) и GSK3b (glycogen synthase kinase-3). Функция данного комплекса лежит в убиквитизации β -катенина в цитозоле и запуск его последующей протеасомной деградации. Благодаря этому в отсутствие Wnt-стимуляции цитоплазматическая концентрация β -катенина поддерживается на низком уровне [87].

Передача сигналов Wnt активируется путем связывания внеклеточных лигандов Wnt с Fzd рецепторами, так, на клеточной поверхности образуется рецепторный комплекс между Fzd-рецепторами и LRP6 (Low density lipoprotein Receptor-related Protein-6). Сложный комплекс Fzd-LRP6 восстанавливает белок Axin и таким образом ингибирует фосфорилирование β -катенина, вызывая его стабилизацию. Накопленный β -катенин мигрирует в ядро, где включает транскрипцию «канонических» (т.е. β -катенинзависимых) генов мишеней Wnt: c-myc, CCND1, E2f1, Axin-2, vimentin, Snail др [87].

Модель генов-супрессоров опухолей или гипотеза «двойного удара» А. Кнудсона предполагает, что для возникновения опухоли требуются две мутации: первая мутация — в клетках зародышевой линии, а вторая мутация — соматическая. Мутации в генах приводят к последующей активации соответствующих сигнальных путей. В частности, генетические изменения в генах-супрессорах опухолей *ARMC5*, *APC*, а также мутации в драйверных генах, таких как *MEN1* приводят к изменениям в сигнальном каскаде Wnt/ β -катенина. Участие пути Wnt/ β -катенин в развитии МДГН было подтверждено транскриптомными исследованиями и исследованиями микроРНК, однако мутаций в гене *CTNNB1*, кодирующем β -катенин при МДГН, выявлено не было [25][21][199]. В работе Berthon и соавт. продемонстрировано, что мутации *ARMC5* могут со временем активировать путь Wnt/ β -катенин в «стареющих» надпочечниках [20]. В свою очередь результатом инактивирующей мутации в гене *APC* является сверхэкспрессия β -катенина [151]. *MEN1* – известный супрессор опухоли пути Wnt/ β -катенин, в данном случае патогенный белок менин действует как лиганд Wnt [60].

Нормальное функционирование Wnt/ β -катенинового пути имеет большое значение для поддержания равновесия между стволовыми, делящимися и дифференцирующимися клетками. Нарушение этого баланса может лежать в основе развития гиперпластических/неопластических процессов.

1.3. Диагностика

1.3.1. Лабораторная диагностика

При обнаружении двусторонних образований надпочечников в первую очередь исследуется наличие/отсутствие гормональной активности, в частности, ФАПК. Это обусловлено рядом факторов, во-первых, необходимостью определения показаний к оперативному вмешательству, во-вторых, прогнозирования развития НН в раннем послеоперационном периоде и синдрома «отмены глюкокортикоидов».

Существующие международные клинические рекомендации в отношении диагностики СК имеют достаточную доказательную базу [156], [155]. В мировой практике для подтверждения/исключения наличия эндогенного ГК, в качестве первичного тестирования могут быть использованы следующие лабораторные методы исследования и диагностические тесты: ночной ПДТ1, исследование уровня свободного кортизола в слюне в вечернее время (двукратное определение) и содержания свободного кортизола в суточной моче (двукратное определение). У всех трех рекомендуемых тестов есть приемлемая диагностическая точность в предлагаемых диагностических значениях, однако, ни один тест не обладает высокой специфичностью, в связи с чем возможны ложноположительные результаты [155]. Для данной патологии ПДТ1 имеет большую чувствительность и специфичность 90% и 87,3% соответственно, чем свободный кортизол слюны и мочи, кортизол в суточной моче (чувствительность 26,7% и 14,3% соответственно) [14].

ПДТ1, имеющий незначительно большую чувствительность для диагностики СК надпочечникового генеза, достаточно прост в выполнении, в том числе в амбулаторных условиях. Ввиду вышеперечисленных преимуществ, он был рекомендован в качестве первичного теста. В основе данного теста лежит ингибирование секреции АКТГ и, как следствие, снижение стероидогенеза пучковой зоны в ответ на приём супрафизиологической дозы ГКС. ПДТ1 отличается простотой при проведении: 1 мг дексаметазона принимается между 23 и 24 часами, на следующее утро в интервале между 8 и 9 часами определяется уровень кортизола в крови. Прием более высоких доз дексаметазона (1,5 или 2 мг) не улучшают точность теста.

Чувствительность ПДТ1 в выявлении ФАПК при уровне cut-off кортизола 130–140 нмоль/л составляет 80%, при cut-off 50 нмоль/л приближается к 100%, в связи с чем это пороговое значение имеет высокую отрицательную прогностическую ценность результата (ПЦОР). Закономерно, что при повышении чувствительности значительно снижается специфичность теста. Специфичность данного теста для промежуточных значений 50–140 нмоль/л не превышает 80%, что означает, что при этих значениях у 20% здоровой популяции не будет происходить подавление кортизола. Даже при превышении концентрации 140 нмоль/л специфичность составляет всего 95%.

При получении промежуточных результатов, находящихся в «серой зоне», предложено применение дополнительных лабораторных методов – исследование концентрации свободного кортизола в суточной моче [33], [46].

В работе Hsiao и соавт. выявлено, что пациенты с МДГН имели высокую экскрецию 17 гидроксикортикостероидов (17OHS), даже когда уровни СКМ были сопоставимы или даже ниже, чем в группе контроля. Известно, что 17OHS в моче представляют фракции кортикостероидов, имеющих гидроксильную группу в положении 17 стероидной структуры, в которую входит кортизол, кортизон, 6-гидроксикортизол, тетрагидрокортизол, аллотетрагидрокортизол и тетрагидрокортизон. Таким образом, у пациентов с МДГН экскретируются с мочой различные метаболиты глюкокортикоидов, которые не обнаруживаются при исследовании СКМ; измерение 17OHS может представлять диагностическую ценность для диагностики МДГН, однако, необходимы дальнейшие исследования для валидации данного метода [83].

При положительном результате первичного тестирования (подтверждении СК, при условии исключенного экзогенного варианта) следующим этапом определяют уровень базального АКТГ. Гиперпластические изменения обоих надпочечников не являются патогномичным признаком АКТГ-независимого СК, этот феномен может возникать вследствие постоянной стимуляции АКТГ. Остается дискуссионным уровень базального АКТГ в качестве верифицирующего ФАПК теста. Подозрительным в плане АКТГ-независимого ГК будут являться показатели ниже референсных значений, однако, при отсутствии подавления уровня АКТГ ниже 5 пг/мл, диагноз ФАПК маловероятен. Чувствительность и специфичность остаются достаточно низкими и составляют 79 и 85%, соответственно [131], [166], [159].

Инструментальная диагностика

При МДГН надпочечники увеличены и содержат несколько узлов диаметром более 1 см. Образования МДГН имеют богатую липидами структуру и, как следствие, чаще всего низкую нативную плотность – менее 10 единиц Хаунсфилда (HU). МРТ брюшной полости используется реже, узлы МДГН обычно характеризуются более выраженным синфазными, чем противофазными сигналами. По сравнению с печенью узелки гипоинтенсивны на T1-взвешенных изображениях и гиперинтенсивны на T2-взвешенных изображениях. По данным результатов многочисленных исследований, на небольших выборках с большим доверительным интервалом (95%), КТ надпочечников имеет более высокую чувствительность (93–99%), чем МРТ (81–99%) [2], [138], [219].

Как правило, с учетом доброкачественного КТ фенотипа опухолей при МДГН нет необходимости в выполнении позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией с дезоксифторглюкозой (ПЭТ-КТ с ^{18}F ФДГ). Более того, у части пациентов МДГН гормонально-активна, вследствие чего узлы будут иметь повышенную метаболическую активность,

что, соответственно, будет влиять на величину SUV ($SUV_{max} > 3,1$) и может привести к неправильной интерпретации результатов [14].

1.3.2. Сцинтиграфия с 1-6-р-йодметилхолестеролом (NP-59)

Сцинтиграфия надпочечников с использованием радиофармацевтического препарата (РФП) 1-6-р-йодметилхолестерол, (сцинтиграфия с NP-59), была разработана в середине 1970-х годов [180].

Метод регистрирует поглощение радионуклидов клетками коры надпочечников: NP-59 связывается с липопротеинами низкой плотности, которые транспортируют его к специфическим рецепторам липопротеинов низкой плотности, в результате чего происходит накопление РФП в мембране адренокортикальных клеток. В дальнейшем препарат попадает внутрь клеток, где подвергается метаболизму [178].

Сцинтиграфия с NP-59 может быть использована в качестве метода дифференциальной диагностики между корковыми образованиями/гиперплазией (при этом будет наблюдаться повышенный захват РФП) и внекорковыми образованиями (метастазы, ФХЦ и др. [56], [174].

В ряде исследований сцинтиграфию с NP-59 использовали в качестве дополнительного метода при выборе стороны одностороннего оперативного вмешательства [47], [161], [223], [110], [86], [76].

По данным исследования Kloos и соавт. чувствительность сцинтиграфии в сочетании с КТ/МРТ для образований диаметром более 2 см достигает 75%, специфичность — 100% [98]. Сцинтиграфия с NP-59 имеет несколько ограничений: во-первых, низкая разрешающая способность при образованиях менее 2 см, во-вторых, этот метод диагностики достаточно времязатратный — отсроченные изображения выполняются через 5–7 дней после инъекция трейссера, в-третьих, при несупрессированном уровне АКТГ захват РФП будет происходить всеми адренокортикальными клетками, что значительно снизит чувствительность метода, в связи с чем часть пациентов нуждается в предварительной подготовке дексаметазоном, в-четвертых, всем пациентам перед исследованием необходим 2-недельный прием йодсодержащих растворов, для блокировки захвата йода клетками щитовидной железы [178]. Этот метод недоступен к широкому использованию в России.

1.3.3. Дифференциальная диагностика МДГН

Учитывая высокую гетерогенность МДГН, не существует ни одного радиологического и/или лабораторного параметра, на основании которого подтверждается диагноз, и его верификация может быть произведена лишь после патологоанатомического исследования удален-

ного/удаленных надпочечников. Таким образом, диагностика МДГН у неоперированных больных основывается на сочетании клинических, лабораторных и радиологических критериев, а также исключения других дифференциальных диагнозов.

Наибольшую трудность вызывает дифференциальная диагностика МДГН с двусторонними аденомами надпочечников, при которых лабораторные и радиологические изменения будут весьма схожи. Однако при тщательном анализе изображений в большинстве случаев удастся визуализировать межузловую гиперплазию при МДГН, которая отсутствует при билатеральных аденомах. В исследовании Acharya и соавт., целью которого был анализ диагностической ценности селективного забора из вен надпочечников, получены результаты, свидетельствующие о двустороннем характере гиперпродукции кортизола у всех 8 исследуемых пациентов с КТ признаками двусторонних образований или имеющих гиперплазию контралатерального надпочечника [1].

Среди гиперпластических изменений в надпочечниках, приводящих к АКТГ-независимым формам СК, выделяют микронодулярную гиперплазию надпочечников (МикГН). В структуре заболеваемости АКТГ-независимого гиперкортицизма на долю МикГН приходится около 1%. МикГН характеризуется наличием в коре надпочечников множественных мелких узелков диаметром 1–4 мм черного цвета, обусловленного накоплением гранул липофусцина. При топической диагностике микрогиперпластические изменения в коре редко регистрируются, большинстве случаев размер надпочечников оценивается как нормальный или незначительно увеличенный в основном за счёт небольших узелков до 5 мм, изменяющих контуры. МикГН не является переходной формой между неизмененными надпочечниками и МДГН. В 70% случаев данное заболевание генетически детерминировано, входит в состав комплекса Карни и обусловлено герминальной мутацией в гене *PRKARIA* [37].

Дифференциальная диагностика между МДГН и АКТГ-зависимой нодулярной гиперплазией, которая возникает при длительном и/или агрессивном течении гиперкортицизма вследствие наличия кортикотропиномы или АКТГ-эктопии, основывается на определении уровня утреннего АКТГ, который будет супрессирован при МДГН, и повышен при АКТГ-зависимых формах СК. При получении сомнительных результатов возможно проведение теста с КРГ и МРТ головного мозга. При частичной глюкокортикоидной резистентности к кортикостероидам, которая возникает вследствие инактивирующих мутаций гена *NR3C1*, кодирующего глюкокортикоидный рецептор, хроническое повышение уровня АКТГ также приводит к гиперпластическим изменениям коркового слоя надпочечников. Данная патология характеризуется высоким уровнем АКТГ и высокими показателями кортизола суточной мочи без каких-либо клинических признаков СК [215].

Двустороннее поражение надпочечников может быть следствием отсутствия должного лечения врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН). В результате длительной деком-

пенсации надпочечниковой недостаточности, выраженная стимуляция АКТГ в сочетании с неэффективным стероидогенезом кортикальных клеток приводит к гиперпластическим изменениям в надпочечниках, которая реализуется в значительном увеличении объема узловой ткани [40]. При этом будет наблюдаться значительно повышенный уровень АКТГ (более 150 пг/мл) в сочетании со сниженным уровнем кортизола (менее 500 нмоль/л).

Среди других причин двусторонних образований надпочечников можно выделить двусторонние феохромоцитомы. Мультифокальный характер поражения при ФХЦ является индикатором наличия наследственного синдрома. По меньшей мере, у трети пациентов причиной заболевания является наследственная мутация (*NFI*, *RET*, *VHL*, *SDHD*, *SDHC*, *SDHB*, *MAX* и др). При топической диагностике данные образования будут иметь более высокую нативную плотность, чем образования при МДГН. Среднее значение нативной плотности ФХЦ варьирует от 25 до 35 НУ. Диагноз устанавливается на основании повышения уровня метилированных катехоламинов в моче.

Двусторонние альдостерон-продуцирующие аденомы выявляются крайне редко. В свою очередь, билатеральная продукция альдостерона наиболее часто обусловлена двусторонней диффузно-узелковой гиперплазией, которая выявляется примерно у трети больных с первичным гиперальдостеронизмом. Оценка секреции альдостерона должна быть осуществлена в соответствии с действующими клиническими рекомендациями [17].

При исключенной гормональной активности, дифференциальную диагностику проводят с двусторонними лимфомами, метастазами злокачественных образований иной локализации (рака груди, легких, толстого кишечника, почки) [17].

Надпочечники занимают четвертое место по частоте встречаемости метастазов. При наличии у пациента инциденталомы/инциденталом надпочечника и рака в анамнезе, вероятность, что надпочечниковое образование является метастазом достигает 75%, при этом билатеральное поражение встречается в 13% случаев. Вовлечение надпочечников наблюдается у 25% пациентов с неходжкинской лимфомой при диссеминированном процессе [186].

Лимфомы, как правило, имеют характерные радиологические признаки. Лимфома надпочечников обычно проявляется в виде крупной четко очерченной массы с высокой нативной плотностью (< 25 НУ), муфтообразным характером роста опухоли, вовлекающим соседние органы и структуры, что, соответственно, не характерно для МДГН [233].

Наконец, при обнаружении двусторонних образований с участками низкой (жировой) плотности необходимо проведение дифференциального диагноза с билатеральными миелолипомами. Миелолипомы – это доброкачественные опухоли, состоящие из жировой и миелоидной ткани, нередко достигающие больших размеров. Они, как правило, гормонально-неактивны. При КТ миелолипомы имеют мозаичную структуру: показатели нативной плотности макроскопических

жировых участков находятся в отрицательном диапазоне ($< 0 \text{ HU}$), в свою очередь для миелодной ткани характерны высокие денситометрические показатели ($> 15 \text{ HU}$). При УЗИ миелолипомы представлены хорошо ограниченными, гетерогенными образованиями с гиперэхогенными зонами жировой ткани и гипоэхогенными миелоидными участками [27], [154].

1.3.4. Диагностика аберрантных/эутопических рецепторов

Выявление как аберрантных, так и эутопических рецепторов возможно на различных этапах ведения пациентов с МДГН. Идентификация вышеуказанных рецепторов необходима для определения перспектив подбора специфической фармакологической терапии с целью предотвращения прогрессирования заболевания и контроля аномального стероидогенеза, однако на сегодняшний момент методом выбора остается оперативное лечение.

1.3.5. Предоперационные тесты

Для скрининга пациентов с МДГН на наличие рецепторов, регулирующих продукцию стероидов, возможно проводить различные стимуляционные тесты, которые могут быть проведены как на до-, так и на послеоперационном этапе. Стратегия данных тестов состоит в модулировании уровней различных гормонов в плазме (эндогенных или экзогенных), которые будут являться лигандами для потенциальных аберрантных рецепторов, под контролем динамики показателей кортизола и АКТГ. Все тесты проводят после ночного голодания, пациенту перед процедурой необходимо находиться в лежачем положении не менее 1 часа. Обязательным условием для их проведения является супрессия АКТГ менее 5 пг/мл. При уровне базального АКТГ более 5 пг/мл, разработавшие данный протокол диагностики Lascoix и соавт. рекомендуют за 48 часов начать прием 1 мг дексаметазона каждые 6 часов, начиная за 48 часов до испытаний, чтобы избежать какого-либо эффекта эндогенного АКТГ на стероидогенез [108].

Прием препаратов, которые могут оказать влияние на тесты (т.е. могут помешать физиологическому действию лигандов, гормонов или блокировать представляющие интерес рецепторы), должен быть прекращен заблаговременно, с учетом периода их полураспада. Так, перед проведением ортостатического теста, антагонисты рецепторов ангиотензина I, ингибиторы АПФ, бета-блокаторы необходимо отменить за 48 ч, в то время как прием антагонистов альдостероновых рецепторов должен быть остановлен непосредственно за 6 недель.

Уровни кортизола и АКТГ определяются исходно и затем каждые 30 мин в течение 2 ч после каждого теста. Изменение уровня кортизола менее чем на 25% интерпретируется как отсутствие ответа, на 25–49% – как частичный ответ, на 50% и более – как полный ответ [108].

Первичный скрининг проводится в течение 3 дней. В 1-й день проводят ортостатический тест, направленный на выявление рецепторов к ангиотензину, вазопрессиновых рецепторов, адренорецепторов; нагрузочная проба с смешанной пищей на GIPR или других гастроинтестинальных гормонов и тест с тетракозактидом короткого действия для определения наличия внутри-адреналовой АКТГ продукции. Во 2-й день проводят тест с ГРГ на наличие рецепторов к ЛГ/ХГЧ в последний 3-й день проводят тесты с глюкагоном, вазопрессином и тест с пероральным метоклопрамидом.

При получении первичного положительного результата (частичный или полный ответ), необходимо проведение подтверждающего теста, который направлен на более точное определение гормона или типа/подтипа рецептора. Например, при увеличении кортизола на фоне ортостатической пробы необходима дальнейшая дифференциальная диагностика между эффектами вазопрессина, катехоламинов, ангиотензина II (АТ II) и предсердного натрийуретического фактора. На первом этапе предложено введение экзогенного вазопрессина. В случае увеличения уровня кортизола необходимо оценить, могут ли физиологические колебания эндогенного вазопрессина изменять уровень кортизола плазмы. Для этого проводится тест с водной нагрузкой 20 мл/кг с последующей инфузией 3%-го раствора хлорида натрия со скоростью 0,1 мл/кг в минуту в течение 120 мин. Ожидаемый результат – супрессия аргинин-вазопрессина и кортизола во время водной нагрузки с последующим увеличением их уровня. Для определения, какой именно рецептор (V1, V2 или V3) обуславливает патологическую секрецию кортизола, подкожно вводится агонист V2-рецепторов – десмопрессин. Однако ответ кортизола на введение экзогенного вазопрессина в определенной дозе не является прямым доказательством того, что основным регулятором стероидогенеза у этих пациентов является вазопрессин. Так, у пациента с положительным первичным тестом (ортостатическая проба), положительной реакцией после введения аргинин-вазопрессина, реакции кортизола на тест с водной нагрузкой и гипертоническим раствором зафиксировано не было. При исследовании тканей удаленного надпочечника рецепторов V1R не было обнаружено. Предполагается, что высокие дозы аргинин-вазопрессина могут влиять на мозговой слой надпочечников, приводя к выработке катехоламинов, которые, в свою очередь, в условиях присутствия соответствующих аберрантных рецепторов могут приводить к избыточной выработке кортизола [236], [106].

В работе Hofland и соавт. сравнили данные *in vitro* с тестами *in vivo* и обнаружили некоторые расхождения: положительные тесты *in vivo* не подтверждались тестами *in vitro*. Авторами было предложено переоценить критерий положительного ответа в 25–50% для установления частичного/полного ответа, по крайней мере, при исследовании рецепторов AVPR1A и 5-HT₄ ввиду возможности непрямого действия на стероидогенез вазопрессина и серотонина на адренорецепторы через аутокринный/паракринный механизм [82]

Положительный ответ на фоне теста со смешанной пищей будет требовать идентификации на какой именно из компонентов еды (углеводы, белки, жиры) произошла стимуляция стероидогенеза. Пациентам предлагается с 3-часовым интервалом пероральный прием 75 г глюкозы, изокалорийного богатого белками и/или жирами питания. Однако, в ряде работ отмечено, что отсутствие влияния приема пищи на секрецию кортизола на фоне пробы не устраняет аномальную чувствительность гиперплазированных тканей надпочечников к ГИП. Groussin и соавт. выявили, что у двух пациентов из 38 пациентов с МДГН выявлена экспрессия GIP-мРНК при отсутствии реакции кортизола на тест с пищей [74].

В работе Bertherat и соавт. при анализе результатов скрининга рецепторов при МДГН *in vivo* и *in vitro*, выявлено, что кортизоловый ответ на введение экзогенного ГИП наблюдался в гиперплазированных клетках надпочечника, несмотря на сомнительный первичный тест с пищей. Это может быть обусловлено низкой экспрессией эктопических GIPR, таким образом, для их выявления необходимы более высокие концентрации ГИП [19].

Ввиду этого, для окончательного подтверждения ГИП-зависимого СК, необходима стимуляция кортизола внутривенным введением человеческого ГИП в дозе 0,6 мкг/кг/мин разведенным в 10%-м растворе глюкозы [236].

Ответ на введение ГнРГ предполагает наличие рецепторов к ЛГ/ХГЧ, ФСГ либо к самому ГнРГ. Положительный первичный тест может быть верифицирован посредством введения в различные дни: ХГЧ 10 000 Ед внутримышечно, ФСГ 150–300 Ед внутримышечно и рекомбинантного ЛГ 300 Ед внутривенно. Ответ на ГнРГ при отсутствии ответа на ФСГ, ЛГ и ХГЧ предполагает наличие эктопического рецептора к ГнРГ. Повышение кортизола в ответ на введение экзогенного ХГЧ, ЛГ или ФСГ указывает к какому именно гормону имеется соответственно рецептор [236].

Описаны единичные случаи выявления эктопических рецепторов к тиреотропин-рилизинг гормону, тиреотропному гормону, пролактину и глюкагону. Непосредственно к каждому рецептору возможен подбор соответствующих агонистов, однако, широко обсуждается вопрос о целесообразности определения данных рецепторов у всех больных с МДГН.

1.3.6. Послеоперационные исследования – ПЦР, ИГХ, ИФА

Для МДГН характерны все признаки доброкачественного процесса (отсутствие/редкие атипические митозы, отсутствие некрозов, различных видов инвазии и др.). При гистологическом исследовании узлы МДГН включают два типа клеток: спонгиозиты, представляющие из себя большие клетки, которые содержат прозрачную цитоплазму, богатую липидами и образуют тубулярные структуры, и компактные клетки, бедные липидами, образуют, в свою очередь, небольшие островкоподобные или гнездные структуры. При МДГН обе популяции клеток рас-

полагаются беспорядочно и образуют узлы разных размеров с переменным стероидным профилем [9]. Образование стероидных гормонов происходит посредством целого ряда ферментов (гидроксистероиддегидрогеназ, цитохром P450-ферментов), определение экспрессии которых позволяет судить о гормональном профиле данных клеток. 3 β -HSD2 обнаруживается только в крупных прозрачных клетках, в то время как CYP17 (P-450C17) экспрессируется преимущественно в маленьких компактных клетках. В частности, значительное преобладание крупных прозрачных клеток может быть причиной относительно неэффективного производства кортизола, однако, это нивелируется значительной клеточной массой в гипертрофированной коре надпочечников, которая в конечном счете может привести к гиперсекреции глюкокортикостероидов [201]. Иммунореактивность для других ферментов, таких как CYP11A1 (P-450scc), CYP21A2 (P-450c21) и CYP11B1 (P-450C11) характерна для обоих типов клеток, однако, отмечается их более выраженная экспрессия в компактных клетках [216].

Первоначально наличие атрофии коры надпочечников вне узлов было предложено в качестве критерия для дифференциальной диагностики АКТГ-независимой и зависимой форм гиперплазии надпочечников с присутствием как узловой, так и внеузловой гиперплазии при последней. Однако, впоследствии были обнаружены случаи МДГН с внеузелковой гиперплазией коры, в связи с чем, на сегодняшний день 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) [83], [210].

Исследование пролиферативной активности (Ki-67), изучение степени атипичности клеток (мутантный белок p53) широко не применяется ввиду доказанной доброкачественности процесса (по данным различных работ, показатель Ki-67 у всех пациентов составил менее 5%) [201], [75]. Анализ экспрессии различных ферментов, ранее проводимый с целью изучения стероидного профиля различных клеток в гиперплазированных узлах, в настоящее время широко не применяется ввиду отсутствия клинического значения, в отличие от оценки рецепторного статуса образований, которая позволяет при необходимости определить метод последующего лечения.

Переходя непосредственно к рецепторному статусу МДГН, необходимо отметить, что обнаружение разного рода рецепторов возможно несколькими способами: ПЦР-РВ, ИГХ, ИФА, у каждого из которых имеются свои преимущества и недостатки. Проведение сравнительного анализа статистических показателей диагностических тестов не проводилось, однако, в большинстве представленных работ проводили анализ как экспрессии мРНК ПЦР методом, так и ИГХ исследование послеоперационного материала, и реже ИФА. Альтернативным вариантом является функциональное исследование на клетках, которые проводятся по аналогии со стимуляционным тестом – оценивается кортизоловый ответ после перифузии ткани удаленного надпочечника различными агонистами рецепторов.

А. Рецепторы глюкозозависимого инсулиотропного пептида (GIPR)

В абсолютном большинстве случаев, по данным литературы, для обнаружения GIP-рецепторов использовали метод ПЦР-РВ [9], [112], [140], [3], [153]. Данный метод позволил не только определить наличие целевой нуклеотидной последовательности в образце, но и измерить количество его копий. С учетом того, что данный рецептор является аберрантным, в приведенных исследованиях определяли лишь наличие или отсутствие GIPR, без количественного анализа.

В приведенном клиническом случае Larose et al., сверхэкспрессия GIPR была обнаружена с помощью обратной транскрипции полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в гиперплазированной надпочечнике (в 10,5 раз выше, чем в контрольной ткани) [112].

Интересно, в работе N'Diaye и соавт. описано, что GIPR-мРНК была также обнаружена не только в макроузлах, но и в прилежащей гиперпластической коре надпочечников [153].

В ходе стимуляционных тестов на клетках выявлено, что присутствие GIP вызывало транзиторное повышение секреции кортизола (200–300%) [3], [74].

Кроме того, стимуляция GIP также вызывает повышение уровня 17-гидроксипрогестерона и уровня тестостерона [3], [153].

Единственное представленное ИГХ-исследование материала пациента с МДГН и миелиомой описали в своей работе Larose и соавт. [112].

При этом отмечается диффузное эндотелиальное прокрашивание на GIPR, а также указывается на очаговую умеренную реакцию на мембранах клеток гиперплазированных узлов, при этом, в случае в миелиомы, экспрессии GIPR обнаружено не было.

Б. α и β -адренорецепторы

Кластеры ADRA2A-иммунореактивных больших спонгиозитов были выявлены в узлах гиперплазии с помощью ИГХ. Иммунная метка присутствовала непосредственно в цитоплазме и на периферии плазматической мембраны клеток пучковой зоны коры надпочечников. Иммунореактивность к данным рецепторам в тканях гиперплазии отсутствовала, в случае, когда первичное антитело было абсорбировано α 2A-AR-пептидом.

Также интересно отметить, что зафиксировано интенсивное иммуноокрашивание в ганглиозных волокнах, проникающих в кору надпочечников, иллюстрирующее экспрессию ADRA2A в нервной ткани. В нормальной ткани коры надпочечников ADRA2A-иммуноокрашивание полностью отсутствовало. Данное наблюдение было подтверждено при проведении ПЦР, а также функциональной пробы с клонидином, в ответ на введение которого наблюдалось усиление выработки кортизола [15].

Экспрессия β -АР была неоднократно подтверждена с помощью реакции связывания, ПЦР-РВ, ИФА и функциональных экспериментов *in vitro* с агонистами β 2 рецепторов (сальбутамол и

изопротеренол) у пациентов с различными опухолями надпочечниковой локализации [80], [95], [44], [137], [19].

Принимая во внимание незначительное количество исследований, посвященных экспрессии $\beta 2$ -AR и ИГХ исследований, направленных на изучение функциональных изменений надпочечников при МДГН, можно лишь выдвинуть предположение, что $\beta 2$ -AR были сверхэкспрессированы в гиперплазированных тканях.

В. Рецепторы вазопрессина

Аберрантная экспрессия рецепторов V2-AVPR и V3-AVPR была задокументирована в исследованиях *in vitro* в узлах надпочечников у пациентов с МДГН [28, 29, 43–47] в основном благодаря ПЦР-РВ, но значение этой экспрессии *in vivo* не изучалось [73], [146], [115], [11], [212], [150], [63].

В работе Hofland и соавт. проанализированы материалы 35 пациентов с МДГН с помощью ПЦР-РВ на наличие различных типов вазопрессиновых рецепторов: V3-AVPR не был обнаружен ни в одном из представленных материалов, в свою очередь, мРНК V2 (AVPR2) была обнаружена в 10 из 29 случаев, но в очень низких концентрациях. Во всех 35 случаях подтвердился высокий уровень экспрессии мРНК V1-AVPR. В данной работе также была продемонстрирована AVPR-индуцированная экспрессия мРНК CYP11B1, которая может указывать на новый молекулярный механизм, лежащий в основе связи между рецептором V1 и стероидогенезом при МДГН [82].

В работе Louiset и соавт. при ИГХ-исследовании тканей как неизмененных, так и измененных надпочечников с анти-V1-AVPR-антителом, окрашивание наблюдалось во всей пучковой зоне. V1-AVPR-позитивные клетки имели морфологическую характеристику спонгиоцитов — крупные вакуолизированные клетки с обильной цитоплазмой. Иммунореактивность присутствовала по периферии и в самой цитоплазме спонгиоцитов. Кластеры эктопированных V2-рецепторов можно обнаружить как в мелких компактных клетках, так и в крупных спонгиоцитах, также отмечалось отсутствие окрашивания в клетках коры неизмененных надпочечников [128].

Однако при сравнительном анализе результатов *in vitro* и *in vivo* (проведение функциональной пробы с селективным агонистом V2 — десмопрессином), ожидаемого эффекта (стимуляции секреции кортизола) зафиксировано не было, что ставит под сомнение роль этих рецепторов в развитии гиперкортицизма у пациентов с МДГН.

В настоящее время, с учетом данных литературы о преобладании случаев сверхэкспрессии V1-AVPR и в отсутствие четких доказательств участия аберрантных AVPR в аномальной выработке кортизола, ставится вопрос о необходимости проведения ИГХ-исследования с антителами к V2- и V3-AVPR [36].

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

При исследовании ткани неизменных надпочечников ИГХ-методом положительная реакция с анти-ЛГ/ХГЧ-антителом будет наблюдаться во всех зонах коры надпочечников. При микроскопии видно, что именно мембрана клетки, а не внутриклеточная жидкость содержит меченый рецептор [79]. В клубочковой и пучковой зоне наиболее яркая иммунореакция видна на мембране клеток, с другой стороны, в клеточном матриксе адренокортикальных клеток окрашивание отсутствует. Только в сетчатой зоне происходит иммуноокрашивание цитозоля части клеток [81].

При использовании ПРЦ-РВ для определения наличия вышеуказанных рецепторов, наблюдается многократное (десятикратное) увеличение экспрессии мРНК LH/hCGR в образцах, полученных как из узловой, так и внеузловой ткани по сравнению контрольными образцами здоровой ткани надпочечника [112].

В случае пациентов с транзиторной МДГН, развившейся во время беременности, экспрессия мРНК LH/hCGR была в четыре раза повышена по сравнению с нормальной, неизменной тканью группы контроля. мРНК и белок LH/hCGR были локализованы в недифференцированных субкапсулярных клетках коры, в клубочковой зоне надпочечников, а также в гиперпластических клетках узлов [168].

При сравнении АКТГ-зависимой и независимой гиперплазии надпочечников, Feelder и соавт. отметили, что при МДГН уровни мРНК LH/hCGR были немного выше, чем у пациентов с вторично гиперплазированными надпочечниками вследствие эндогенной стимуляции АКТГ [59].

Остается неясной причина отсутствия ответа при стимуляционных пробах с ГнРГ, ЛГ и ХГЧ при доказанной экспрессии мРНК LH/hCGR. Предполагается, что некоторые транскрипционные мембранные рецепторы, такие как LH/hCGR, могут не транслироваться в рецепторные белки или, в случае трансляции, данные клетки могут не иметь функции секреции гормонов при стимуляции лигандами. Другим потенциальным фактором может быть просто недостаточно высокая экспрессия данных рецепторов в тканях МДГН [146]. Для решения этих вопросов потребуются дополнительные исследования.

Д. Рецепторы серотонина

В норме в надпочечнике серотониновые рецепторы экспрессируются периваскулярными тучными клетками в субкапсулярном слое. В ходе ИГХ-исследования при инкубации срезов тканей МДГН с анти-5-НТ7 рецепторными антителами отмечалось интенсивное мечение в субкапсулярной области коры надпочечника. Кластеры иммунореактивных клеток также наблюдались в центральных зонах гиперпластических узлов. Рецептороподобная 5-НТ7 иммунореактивность

была обнаружена в обеих субпопуляциях клеток, обычно наблюдаемых при МДГН, т.е. в спонгиозитарных элементах с обильной цитоплазмой и липидными каплями и в небольших компактных клетках. Иммуномечение присутствовало как в цитоплазме, так и на периферии клеток. В неизмененных тканях иммунной реакции с анти-5-HT₇R не выявлено. Отмечается иммуноокрашивание в кровеносных сосудах как измененной, так и нормальной коре надпочечников [127].

Влияние кортикостероидов на экспрессию рецептор 5-HT₇R Saroj и соавт. оценивали с помощью ИГХ, вестерн-блоттинга и ПЦР-РВ. 14-дневный хронический иммобилизационный стресс, а также введение ГКС, привели к значительному повышению 5-HT₇R-подобной иммунореактивности в коре надпочечников с наибольшей интенсивностью иммунного окрашивания в клубочковой зоне и наружном слое пучковой зоны. Тем не менее, в ходе вестерн-блоттинга было выявлено, что содержание белка 5-HT₇R в надпочечниках крыс, получавших ГКС было на 57% больше, чем в двух других группах [181].

Данные результаты подтверждают мнение о том, что вызванное хроническим стрессом увеличение адренокортикальных 5-HT₇R и содержание 5-HT в надпочечниках является глюкокортикоид-зависимым феноменом. Проведение дальнейших исследований необходимо для понимания процессов патогенеза МДГН: является ли экспрессия серотониновых рецепторов результатом длительной, хронической гиперкортизолемии или же aberrantная экспрессия данных рецепторов является причиной избыточной секреции ГКС.

1.3.7. Внутриадренальная продукция АКТГ

Как было упомянуто ранее, в 2003 г. впервые выявили ауто-/паракринное воздействие АКТГ, синтезируемого непосредственно в ткани надпочечников. В данном случае при ИГХ-исследовании выявляется диффузное клеточное окрашивание в гиперплазированной коре надпочечников, а также его полное отсутствие в мозговом веществе и неизменной коре надпочечников [117], [136], [37, 67].

В работе Louiset и соавт. проведено ИГХ-исследование 25 гистологических препаратов пациентов с МДГН, при котором обнаружили иммунореактивные клетки к АКТГ-антителам в субкапсулярной области и в гиперпластических узлах. Изолированные кортикотропин-позитивные клетки наблюдались только в 4/25 доступных образцов (16%); в остальных 21 образце (84%) они были расположены в кластерах. Иммунореактивность к АКТГ зафиксирована в двух субпопуляциях клеток, как в спонгиозитах, так и в маленьких компактных клетках. Полуколичественное определение иммунной реакции спонгиозитов и компактных клеток показало умеренное иммуноокрашивание в 9 (36%) и 8 образцах (32%) и интенсивное иммуноокрашивание в 11 (44%) и 14 образцах (56%) соответственно. Изолированное иммуноокрашивание спонгиозитов наблюдалось в 18 образцах (72%), а компактных клеток — в 17 образцах (68%) [129].

Таким образом, исследования в области рецепторного статуса МДГН могут расширить понимание процессов патогенеза, диагностики и терапии пациентов с МДГН. Можно предположить, что экспрессия различных рецепторов изменяется в узлах МДГН под действием внешних и внутренних факторов. Приоритетным и пока открытым остается вопрос о диагностической и клинической значимости, а также времени и способе определения вышеуказанных рецепторов. С одной стороны, после проведения трудоемких стимуляционных тестов у незначительного количества пациентов возможен подбор медикаментозной терапии, минуя оперативное вмешательство; с другой стороны, односторонняя адреналэктомия и достижение длительной ремиссии гиперкортицизма являются адекватной альтернативой пожизненному и дорогостоящему консервативному лечению. В настоящий момент требуется накопление дополнительных данных о клинической эффективности и финансовой целесообразности предлагаемых альтернативных методов диагностики и лечения МДГН.

1.4. Лечение

1.4.1. Хирургическое лечение

Основным методом лечения МДГН, сопровождающимся гиперпродукцией кортизола, на данный момент остается оперативное вмешательство. До 2015 г. лапароскопическая двусторонняя адреналэктомия (ДА) являлась рекомендуемым объемом хирургического вмешательства. Одним из обоснований столь радикального объема являлось двустороннее поражение с приблизительно равнозначными опухолевыми изменениями в надпочечниках.

Преимуществом ДА является быстрота достижения эффекта и контроль гиперкортицизма, в то время как его недостатки включают в себя необходимость пожизненного приема заместительной терапии и достаточно высокий риск смерти от острой НН. Смертность в течение 10 лет после ДА по поводу МДГН составила 10%. Подбор оптимальной дозы в достаточной мере индивидуален, более того восстановление нормального суточного ритма кортизола достаточно трудно достичь. Несмотря на использование адекватной заместительной терапии, многие пациенты имеют признаки НН, которые включают анорексию, тошноту, потерю веса и другие неспецифические симптомы, такие как усталость, гриппоподобные миалгии и артралгии, вялость и сухость кожи [156].

На данный момент, ОА, ассоциированная с меньшим количеством осложнений по сравнению с ДА, представляется наиболее подходящим методом лечения пациентов с МДГН. Впервые в 2015 г. Debillion и соавт. опубликовали результаты по выполнению ОА у пациентов с манифестным гиперкортицизмом, вызванным МДГН [47].

В ходе 5-летнего периода наблюдения у всех прооперированных пациентов ($N = 15$) наблюдалась стойкая ремиссия у части больных гипокортицизм, что свидетельствовало о высокой эффективности односторонней операции несмотря на двусторонний характер поражения.

Согласно ряду исследований, послеоперационная ремиссия достигается в 90% случаев, хотя необходимо отметить, что определение ремиссии сильно различается в опубликованных исследованиях. В данных работах сообщается об улучшении клинического течения сопутствующих заболеваний, связанных с избыточной продукцией кортизола, таких как ожирение, АГ или СД. При анализе гормональных изменений, связанных с гиперкортицизмом, зафиксирована нормализация уровня СКМ у большинства пациентов, в то время как другие гормональные показатели, такие как уровни вечернего кортизола крови или кортизола в ходе ПДТ1, остаются повышенными, хотя отмечалась тенденция к их снижению. НН, несмотря на наличие резидуальной ткани в контрлатеральном надпочечнике, встречалась примерно у трети больных и носила транзиторный характер [47], [161], [223], [110], [86].

Наибольший интерес представляют результаты недавнего ретроспективного исследования Wang и соавт., в ходе которого были проанализированы результаты ОА, выполненной 124 пациентам с МДГН. Медиана наблюдения составила 28 месяцев. Кушингоидные признаки регрессировали у 70,8%, а то время как улучшение течения АГ и СД наблюдалось у 82,3% 69,0%, соответственно. Транзиторная НН наблюдалась у незначительной части больных (6,0%), что достаточно сильно отличалось от результатов предыдущих исследований. Более того, сообщается, что у 64/116 пациентов (55,2%) был зафиксирован биохимический рецидив, что потребовало выполнения контралатеральной адреналэктомии 43 пациентам. Медиана временного интервала между первичным и повторным оперативным вмешательством составила 24 месяца. У пациентов с манифестным СК объем надпочечников был больше, чем у пациентов без явного СК. Пациенты с объемом контралатерального надпочечника $> 33,54$ мл или с предоперационным уровнем свободного кортизола в моче $> 216,08$ мг/24 ч чаще имели рецидив [218].

Также в работе Sheikh и соавт. выявлена положительная корреляция между размером образования контрлатерального надпочечника и персистенцией СК (во всех случаях персистенции СК его размер превышал 3,5 см). Таким образом, при размере узла неудаленного надпочечника менее 3,5 см, вероятность ремиссии после хирургического лечения оставалась выше, чем при образованиях большего размера (100 против 79 %) [185].

Выбор стороны поражения для хирургического лечения не всегда прост. Размер надпочечника был основным критерием во всех приведенных исследованиях. В большинстве случаев производилось удаление наибольшего надпочечника, учитывая тот факт, что размер поражения надпочечника практически всегда коррелирует со степенью избытка кортизола. Ряд авторов в

качестве верифицирующего метода использовали скintiграфию с NP-59, которая является в достаточной мере чувствительным и специфическим методом для выбора стороны операции в случаях СК с двусторонним поражением надпочечников. Однако сторона преимущественного накопления радиоактивного изотопа при скintiграфии почти всегда совпадала со стороной наибольшей массы надпочечника [47], [161], [223], [110], [86], [76].

При анализе вышеуказанных источников, из 31 случая только в одном (3,2%) поглощение было несопоставимо с доминирующей по размеру стороной. В связи с чем, ставится под сомнение необходимость рутинного применения скintiграфии с NP-59, так как данный метод не несет никакой дополнительной ценности в выборе доминирующей стороны секреции кортизола. Соответственно, когда наблюдается асимметрия надпочечников по размеру, сторона адrenaлэктомии может быть выбрана по наибольшей стороне на КТ или МРТ.

В качестве альтернативного, надежного метода выявления латерализации избытка кортизола был предложен сравнительный селективный забор из вен надпочечников (ССВЗК) по аналогии с его использованием при ПГА [1], [229], [208].

Это инвазивный, трудоемкий и специалист-зависимый метод, поэтому он малодоступен, более того он требует селективного измерения уровней метанефрина крови для подтверждения успешной катетеризации. По немногочисленным доступным данным сторона латерализации в большинстве случаев совпадает с наибольшим надпочечником [1], [229], [208].

В исследовании Young и соавт. ССВЗК проведен 9 пациентам с двусторонними образованиями надпочечников (двусторонние аденомы и МДГН). Градиент латерализации у пациентов с МДГН в 2/2 (100%) совпадал с большей по размеру стороной на КТ [229].

В работе Ueland и соавт. проведен сравнительный анализ результатов ССВЗК и скintiграфии с I131-холестерином у пациентов с билатеральными образованиями (гистологическая верификация не приведена) и ФАПК. Методика ССВЗК имеет чувствительность в 57% и специфичность – 73%. 9 пациентам проведен сравнительный анализ результатов ССВЗК и скintiграфии с NP-59, результаты которых часто, но не всегда согласовались. Предположительно это связано с тем, что скintiграфическое поглощение I131-холестерина представляет собой интеграл общего синтеза стероидных гормонов надпочечниками в течение нескольких дней, в то время как ССВЗК представляет собой точечное определение продукции кортизола [208].

В работе Acharaya и соавт. среди 8 исследуемых с МДГН по данным ССВЗК ни у одного пациента не зафиксирована односторонняя гиперпродукция кортизола. При установленной двусторонней секреции у всех пациентов не получен должный градиент латерализации. При анализе корреляции, соотношение между большим размером образования надпочечника и более высоким соотношением уровня кортизола из надпочечниковой вены/нижней полой веной было получено

в 50% случаев. Диагноз МДГН верифицирован патологоанатомически у всех прооперированных пациентов (5/5) [1].

В недавнем исследовании 16 пациентов с МДГН, ССВЗК был проведен без предварительной стимуляции АКТГ или подавления дексаметазоном. Латерализация была зарегистрирована у 8 из 16 пациентов, при этом в 5 из 8 случаев получена латерализация в сторону морфологически более крупных надпочечников, в то время как у 3 пациентов зафиксирована латерализация в билатерально идентичных надпочечниках, т.е. ССВЗК был полезен только в последних 3 случаях. Суммарный объем надпочечников положительно коррелировал со свободным кортизолом в моче, что позволяет предположить, что размер надпочечников определяет степень секреции кортизола [179].

Встает вопрос о необходимости определения градиента латерализации ввиду того, что при МДГН гиперсекреция кортизола всегда носит двусторонний, хотя и ассиметричный характер, более того, методика имеет достаточно низкую чувствительность и специфичность, в равной степени не определены отрезные точки. Тем не менее селективный забор позволяет проводить дифференциальную диагностику между МДГН и гормонально-активной аденомой в сочетании с функционально-неактивным образованием.

Таким образом, результаты многочисленных исследований указывают, что именно размер надпочечников является ключевым в выборе стороны оперативного вмешательства.

Основная проблема ОА, несмотря на достижение долгосрочной устойчивой ремиссии, заключается в необходимости пожизненного наблюдения пациентов с МДГН, в связи с тем, что некоторым из них в конечном итоге потребуются окончательная адреналэктомия из-за рецидива гиперкортицизма. По опубликованным данным, частота рецидивов и необходимость выполнения контрлатеральной адреналэктомии после ОА достаточно сильно варьирует, в большинстве работ этот показатель не превышал 30%, в работах Wang и соавт. и Albiger и соавт. он составил 55 и 73% [47], [161], [223], [110], [86].

Сводные данные по результатам работ с небольшими когортами больных (от 4 до 116 исследуемых) приведены в Таблице 1. Рецидив может возникнуть и через 15 лет после ОА и, таким образом, эта частота увеличивается при более длительном наблюдении. Тем не менее, из-за обычно вялотекущего и медленно прогрессирующего гиперкортицизма многие пациенты будут оставаться под контролем в течение многих лет, даже десятилетий, несомненным преимуществом является отсутствие необходимости приема заместительной терапии, отсутствие риска развития НН после достижения эукортицизма в послеоперационном периоде. Фактически, в недавно опубликованном исследовании ни у одного из пациентов с МДГН, перенесших ОА, не возник адреналовый криз, в отличие от 38% пациентов с ДА [161]

Таблица 1 – Результаты односторонней адреналэктомии в лечении СК у пациентов с МДГН

Авторы	Кол-во пациентов, n	Клиническое течение МДГН	Обоснование выбора стороны удаляемого надпочечника	Ремиссия, n (%)	Критерии установки ремиссии	Рецидив, n (%)	Критерии установки рецидива	Тотальная адреналэктомия (n, медиана времени до события (мес))	Время наблюдения, мес
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lamas et al, 2002 [110]	4	Манифестная форма СК – 1/4 ФАПК – 3/4	Доминирующий по размеру надпочечник	4/4 (100%)	1. Нормализация кортизола (8:00, 23:00). 2. СКМ (< 331 нмоль/сут). 3. Регресс клинических симптомов СК	-	NA	-	Медиана 78,8 [30-137]
Xu et al, 2013 [223]	14	Манифестная форма СК – 14/14	Доминирующий по размеру надпочечник	13/14 (93%)	1. Нормализация кортизола (8:00, 23:00). 2. СКМ (< 331 нмоль/сут) 3. Нормализация АКТГ (8:00) 4. Регресс клинических симптомов СК	-	1. Отсутствие подавления кортизола в ходе ПДТ1 и/или 2. Повышение СКМ. 3. Возобновление симптомов СК	1/14, NA	Медиана 69 [23-120]
Debillion et al, 2015 [47]	15	Манифестная форма СК – 4/15. ФАПК – 11/15	Доминирующий по размеру надпочечник + верификация скитиграфией с 131-И холестерином (8/15)	15/15 (100%)	1. Нормализация СКМ 2. Развитие НН	1(7%)	Повышение СКМ	1/15, 108	Медиана 60 [39-105]
Li et al, 2015 [123]	15	Манифестная форма СК – 13/15. ФАПК – 2/15	NA	15/15 (100%)	NA	3 (20%)	1. Отсутствие подавления кортизола в ходе ПДТ1 и/или 2. Повышение СКМ 3. Возобновление симптомов СК	3/15, 36	NA
Albiger et al, 2015 [4]	12	Манифестная форма СК – 8/12. ФАПК – 4/15	Доминирующий по размеру надпочечник + верификация скитиграфией с 131-И холестерином (5/12)	11/12 (92%)	<i>Биохимическая ремиссия:</i> 1. Подавление кортизола в ходе ПДТ1 (< 50 нмоль/л) и/или 2. Нормализация СКМ. 3. Нормализация АКТГ (8:00) <i>Клиническая ремиссия:</i> 1. Регресс клинических симптомов СК (потеря веса, улучшение метаболических показателей, АД)	8/12 (73%)	1. Отсутствие подавления кортизола в ходе ПДТ1 и/или 2. Повышение СКМ 3. Возобновление симптомов СК	4/12, 55 [12-180]	Медиана 92 [24-267]

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Osswald et al, 2019 [161]	25	NA	Доминирующий по размеру надпочечник + верификация сцинтиграфией с 131-И холестерином (NA/25)	21/25 (84%)	Биохимическая ремиссия: 1. Подавление кортизола в ходе ПДТ1 (< 1,8 мкг/дл) и/или 2. СКМ (< 150 мкг/сут) Клиническая ремиссия: 3. Регресс клинических симптомов СК	3 (12%)	NA	NA	Медиана 50
Sheikh-Ahmad et al, 2019 [185]	9	NA	Доминирующий по размеру надпочечник + верификация сцинтиграфией с 131-И холестерином (6/9) + верификация селективным забором из надпочечниковых вен (2/9)	8/9 (89%)	4. Подавление кортизола в ходе ПДТ1 и/или СКМ 5. Регресс клинических симптомов СК	2(22%)	1. Отсутствие подавления кортизола в ходе ПДТ1 и/или 2. Повышение СКМ. 3. Возобновление симптомов СК	2/2, 2 и 168	Медиана 68 [5-168]
Zhang et al, 2020 [232]	29	Манифестная форма СК – 22/29 ФАПК – 7/29	Доминирующий по размеру надпочечник	21/29 (73%)	Регресс клинических симптомов СК	8(27%)	1. Возобновление симптомов СК	8/8, NA	Медиана 20 [3-81]
Wang et al, 2022 [218]	116	Манифестная форма СК – 65/116. ФАПК – 51/116	Доминирующий по размеру надпочечник	43/65 (71%)	Регресс клинических симптомов СК	64/116 (55,2%)	NA	64/64, 24	Медиана 28,5
Bertherat и соавт. (обзор)	286	–	–	222 (77%)	–	83/286 (29%)	–	–	–

1.4.2. Послеоперационная надпочечниковая недостаточность

Все пациенты с МДГН после хирургического лечения, вне зависимости от объема оперативного вмешательства (ОА или ДА) должны рассматриваться как пациенты с высоким риском послеоперационной НН. В работе Debillion и соавт. доля пациентов с НН составила 53%. При анализе прогностических факторов для послеоперационной НН, предикторов выявлено не было [47].

В обзоре Sheikh-Ahmad и соавт. проанализирован 71 случай ОА при МДГН. По результатам данного исследования НН после ОА возникла в 21 случае (29,6 %); при этом в 15 случаях состояние эукортицизма достигнуто через 7–84 мес. ($24,8 \pm 21,65$ мес.), у 4 пациентов сохранялась в течение всего времени наблюдения 6–84 мес. ($38,5 \pm 39$ мес.). При корреляционном анализе впервые получены данные, что больший размер оставшегося надпочечника обратно пропорционален риску развития НН. Более высокое соотношение между размерами резецированной ткани и оставшегося надпочечника положительно коррелировало с адреналовой гипофункцией. Равным образом выявлено, что более высокий уровень СКМ положительно коррелировал с развитием клинических признаков НН ($p = 0,009$) [185].

В большинстве работ основным критерием установки НН в раннем послеоперационном периоде являлась клиническая картина [47], [161], [185], [223], [110]. [86], [4], [232]. В работе Debillion и соавт. с целью диагностики НН определялся уровень кортизола в утреннее время (8:00), при получении пограничного результата выполнялся стимуляционный тест с АКТГ 1-24. Выявлено, что после односторонней адреналэктомии тест АКТГ 1-24 может давать ложноположительный ответ, так как оставшаяся гиперпластическая ткань аномально реагирует на АКТГ. Более того, длительная суперссия гипофиза высокими концентрациями ГКС может привести к временному нарушению секреции АКТГ в ответ на стимул [47].

После успешной операции по поводу СК быстрое развитие НН предвещает благоприятный прогноз лечения [156]. Тем не менее, несмотря на послеоперационную заместительную терапию ГКС, быстрое снижение воздействия высоких значений кортизола часто приводит к явлению, известному как синдром отмены глюкокортикоидов.

Синдром отмены глюкокортикоидов (СОГ) — реакция отмены вследствие снижения супрафизиологических концентраций ГКС, возникающая после успешного хирургического вмешательства по поводу СК. СОГ является сложнораспознаваемым состоянием у пациентов, перенесших оперативное лечение по поводу эндогенного СК [81].

После хирургического лечения эндогенного СК СОГ обычно характеризуется биохимическими признаками подавления ГГНО со многими симптомами, соответствующими дефициту кортизола, несмотря на использование заместительной терапии ГКС, в некоторых случаях даже в супрафизиологической дозировке. Как правило, данный феномен обнаруживается у пациентов

с длительным и тяжелым течением СК, в первую очередь это больные с БИК. К симптомам, связанных с СОГ, относят анорексию, вялость, сонливость, артралгию, миалгию, лихорадку. Ввиду неспецифичности симптомов, дифференциальная диагностика между СОГ и НН весьма затруднительна. Для НН будет характерна гипотония, гипогликемия, тошнота с последующей рвотой. Восстановление от СОГ, развившегося после оперативного лечения, может занять от 12 до 18 месяцев [79].

С точки зрения клинической практики пациенты после хирургического лечения эндогенного СК нуждаются в заместительной терапии ГКС не только при НН, но и при симптомах СОГ. В качестве альтернативного метода диагностики предложено определение кортизола на фоне отмены ГКС. В работе Hurtado и соавт. у пациентов, перенесших одностороннюю адреналэктомию, восстановление ГГНО считалось достигнутым, когда уровень кортизола в сыворотке в 8 часов утра составлял ≥ 10 мкг/дл или ≥ 276 нмоль/л через 24 часа после последней введенной дозы ГКС [85]. Тест на стимуляцию АКТГ 1-24 просто оценивает реакцию надпочечников на АКТГ, а стимуляционный тест с гипогликемией исключает вторичный генез НН, в свою очередь определение концентрации кортизола в 8 часов утра оценивает полное восстановление оси.

1.4.3. Медикаментозное лечение

Обнаружение повышенной активности aberrантных рецепторов дает возможность использования таргетной терапии путем блокирования aberrантных рецепторов либо уменьшения влияния стимулирующих факторов, таких как октреотид, пропранолол, агонист ГнРГ длительного действия. При этом следует учитывать, что в настоящее время специфическое медикаментозное лечение применимо только у пациентов с aberrантной экспрессией LH/hCGR, GIPR и β -AR, тогда как консервативная терапия у пациентов с aberrантной экспрессией других рецепторов не проводится ввиду отсутствия или малой доступности их антагонистов [210].

Введение аналога соматостатина для ингибирования постпрандиального высвобождения ГИП эффективно устраняет постпрандиальную секрецию кортизола и, как было показано, приводит к клиническому и биохимическому улучшению показателей, но по данным немногочисленных наблюдений, этот эффект является лишь временным из-за десенсибилизации рецепторов соматостатина в ГИП-секретирующих К-клетках двенадцатиперстной кишки. Так, в работе Preutont и соавт. сообщается, что несмотря на значительное острое подавление постпрандиальной реакции кортизола в начале лечения октреотидом и пасиреотидом, эффектов на клиническое течение и сопутствующие метаболические нарушения обнаружено не было, а при повторных лабораторных тестах через 3 и 6 месяцев отсутствовала и постпрандиальная супрессия кортизола, что повлекло за собой необходимость проведения ДА [170]. Эффект ускользания был также отмечен рядом других авторов [93], [4].

Напротив, сообщалось о случаях ЛГ/ХГЧ-зависимой и катехоламин-зависимой МДГН с длительным контролем избытка кортизола с помощью длительно действующего агониста ГнРГ и бета-блокаторов соответственно [26], [93], [4], [78]. По данным исследования Кагарапоу и соавт. на фоне инъекций аналога ГнРГ (лепрорелин), что было эффективно в контроле избыточной продукции кортизола, о чем свидетельствовали нормализация показателя кортизола на фоне ПДТ1, снижение ночных уровней кортизола и восстановление подавленных значений утреннего АКТГ. Период наблюдения составил 3 года [93]. Однако биохимическое улучшение не всегда может приводить к клиническому ответу, а непереносимость, особенно обычно высоких требуемых доз бета-блокаторов, может ограничивать эффективность медикаментозного лечения [26], [4]. Несмотря на биохимический контроль, регрессии опухоли как правило не происходит, предположительно, в связи с накоплением с течением времени дополнительных генетических дефектов, вызывающих пролиферацию [108]. Хотя медикаментозное лечение возможно для пациентов с аберрантными рецепторами, число пациентов, получающих пользу от этого вмешательства, довольно ограничено.

По данным исследования Louiset и соавт. активация серотониновых рецепторов, в частности 7-го типа, может приводить к изменению внутриклеточного уровня кальция и опосредованно влиять на стероидогенез через изменения концентрации калия и кальция в клетке. Авторы выдвигают гипотезу, что блокаторы кальциевых каналов могут внести свой вклад в лечение гиперкортицизма при МДГН, однако дополнительных работ в данной области не проводилось [127].

Ингибиторы стероидных ферментов эффективны и могут применяться по тем же показаниям, что и другие формы СК [156]. Данные о долгосрочной эффективности медикаментозной терапии СК надпочечникового генеза немногочисленны, вероятно, потому что оперативное лечение, как правило приводит к излечению заболевания, а частота побочных явлений при приеме препаратов данной группы достаточно велика.

Debono и соавт. предложили подход, при котором ингибиторы стероидогенеза назначаются таким образом, чтобы восстановить нормальный ритм кортизола, то есть снизить вечерние и ночные уровни кортизола, не влияя на утренние уровни, путем введения рассчитанных по времени вечерних доз препаратов короткого действия, таких как метирапон [48]. В экспериментальном исследовании этот подход привел к восстановлению нормального циркадного паттерна кортизола и снижению сердечно-сосудистого фактора риска IL-6. Несмотря на привлекательную концепцию, безусловно, требуются дополнительные исследования, включая большее число пациентов и более надежные результаты. При назначении другого ингибитора стероидогенеза – кетоконазола, необходим тщательный контроль печеночных трансаминаз. Профиль побочных эффектов кетоконазола относительно удовлетворительный, за исключением возможности развития тяже-

лой печеночной недостаточности, которая, по оценкам, возникает у одного из 15 000 подвергшихся воздействию лиц. Среди 33 случаев возможного поражения печени, вызванного кетоконазолом, у 18 пациентов было 8-кратное повышение уровня трансаминаз, у пяти — холестатическое поражение, а у девяти — сочетание этих двух факторов [156]. Менее благоприятным по переносимости является препарат Митотан. Частота серьезных неблагоприятных событий, которые влекут за собой необходимость отмены препарата, достигает 28%. При лечении СК любым препаратом, относящиеся к ингибиторам стероидогенеза, риск возникновения НН возрастает. Желудочно-кишечные симптомы гипофункции надпочечников во многих случаях совпадают с побочными эффектами лекарств. Таким образом, при назначении данных препаратов необходимо исключить возможность развития НН.

Таким образом, выбор лечебной тактики при МДГН является достаточно противоречивым. Спектр опций колеблется от одномоментной двусторонней адреналэктомии до громоздкой дорогостоящей предоперационной оценки статуса аберрантных и эутопических рецепторов с попыткой медикаментозного воздействия. Многие исследователи сходятся в том, что эндоскопическая ОА на данный момент представляется наиболее эффективным методом лечения гиперкортицизма при МДГН, приводящем к быстрому достижению гипо-/эукортицизма, однако критерии послеоперационного ведения и возможная оценка тканевого рецепторного статуса неоднозначны. В случае возникновения рецидива, представляется возможным рассмотрение других вариантов лечения, в том числе таргетной терапии. Однако, при условии сочетанной экспрессии множественных аберрантных и эутопических рецепторов, такая задача является крайне сложной.

По всем вышеуказанным вопросам отсутствуют отечественные исследования. В нашей работе мы попытаемся частично осветить некоторые вопросы, наметить пути дальнейших изысканий.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

2.1. Пациенты, включенные в исследование

В соответствии с поставленными целями и задачами в исследование было включено 110 человек с диагнозом МДГН.

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.

Первоначально для включения в исследования было отобрано 123 пациента с двусторонними множественными образованиями надпочечников.

Критерии включения:

– инструментально подтвержденная МДГН: двусторонние, множественные образования надпочечников (дополнительный критерий – наличие гиперплазии надпочечников).

Критерии исключения:

- возраст моложе 18 лет;
- врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН);
- подозрение на злокачественное новообразование надпочечниковой локализации (образования со злокачественным КТ-фенотипом);
- двусторонние феохромоцитомы, ПГА;
- беременность;
- тяжелые, угрожающие жизни сопутствующие состояния и заболевания (декомпенсация хронической сердечной недостаточности (ХСН), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), острая печеночная и почечная недостаточность и др.);
- применение препаратов глюкокортикоидов, а также лекарственных веществ, потенциально влияющих на уровни кортизола в крови / суточной моче и изменяющие результаты фармакологических тестов, проводимых для диагностики эндогенного гиперкортицизма;
- отказ от участия в исследовании на любом этапе.

Всем пациентам ($n = 123$) проведено обследование, направленное на определение гормональной активности образований. Диагностика гормональной активности проводилась в соответствии с отечественными клиническими рекомендациями Минздрава России по дифференциальной диагностике инциденталом надпочечников.

Наличие эндогенного гиперкортицизма устанавливалось на основании отсутствия подавления уровня кортизола на ночном подавляющем тесте с 1 мг дексаметазона (> 50 нмоль/л), в качестве дополнительно метода исследовался уровень СКМ. АКТГ-независимых характер гиперкортицизма устанавливался на основании сниженного уровня утреннего АКТГ (менее 5 пг/мл).

Манифестная форма СК устанавливалась при наличии эндогенного АКТГ-независимого гиперкортицизма (отсутствие подавления в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона [> 50 нмоль/л] и повышение СКМ, сниженный уровень АКТГ [< 5 пг/мл]) в сочетании с большими клиническими признаками гиперкортицизма (изменение внешности по кушингоидному типу, трофические изменения кожных покровов [фиолетово-багровые стрии], проксимальная миопатия, АГ, нарушения углеводного обмена и др.)

ФАПК устанавливался при наличии гормональных изменений характерных для СК надпочечникового генеза (отсутствие подавления в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона [> 50 нмоль/л] и/или повышение СКМ, сниженный уровень АКТГ [< 5 пг/мл]) и отсутствием классических клинических симптомов («больших признаков»), а также легком течении коморбидных состояний – АГ, нарушений углеводного обмена, а также при отсутствии тяжелого остеопороза.

Диагноз «гормонально-неактивная форма МДГН» устанавливался при отсутствии лабораторно подтвержденной гормональной активности, но наличии характерных изменений (узловая гиперплазия надпочечников) по данным радиологического обследования.

Исключение катехоламин-продуцирующих опухолей проводилось пациентам с высокоплотными образованиями по данным КТ (> 20 HU), с помощью исследования суточной экскреции метилированных катехоламинов. При наличии у пациентов АГ также проводилось первичная диагностика ПГА, в соответствии с клиническими рекомендациями.

При отягощенном онкологическом анамнезе, исключение метастазов злокачественных опухолей иной локализации в надпочечник проводилось на основании данных КТ (высокая нативная плотность, быстрый рост образований), а также повышения специфических онкомаркеров. При подозрении на ВДКН, в первую очередь проводилось гормонально обследование, при получении значительно повышенного уровня АКТГ (более 150 пг/мл) в сочетании с уровнем кортизола менее 500 нмоль/л, проводилось дальнейшее обследование в соответствии с действующими клиническими рекомендациями.

2.2. Дизайн исследования

Распределение пациентов по группам для проведения различных разделов исследования и решения поставленных задач:

1. Оценка эффективности односторонней адреналэктомии у пациентов с манифестным гиперкортицизмом при МДГН и ФАПК с множественными коморбидными состояниями.

Критерии включения: пациенты с установленным и верифицированным в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России диагнозом МДГН с ФАПК и манифестным СК, перенесшие одностороннюю адреналэктомию с 2014 по 2022 гг.

Тип исследования: одноцентровое, интервенционное, динамическое (пациенты проходили обследование каждые 6 месяцев), ретроспективное (минимальный срок наблюдения – 3 месяца, максимальный – 82 месяца), одновыборочное, неконтролируемое.

Количество пациентов: 44 пациента

2. Оценка уровня кортизола крови (8:00 – 9:00), как предиктора развития НН в раннем послеоперационном периоде у пациентов с МДГН после ОА.

Критерии включения: пациенты с установленным и верифицированным в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России диагнозом МДГН с ФАПК, перенесшие одностороннюю адреналэктомию с 2014 по 2022 гг.

Критерии исключения:

- пациенты с установленным и верифицированным в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России диагнозом МДГН с ФАПК, перенесшие одностороннюю адреналэктомию, у которых в течение первых суток после проведенного оперативного вмешательства развились признаки НН;

- пациенты с установленным и верифицированным в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России диагнозом МДГН с ФАПК, перенесшие в анамнезе оперативное вмешательство на контрлатеральном надпочечнике

Тип исследования: одноцентровое, наблюдательное, одномоментное, проспективное (в течение 3 суток после оперативного вмешательства), одновыборочное, неконтролируемое.

Количество пациентов: 35 пациентов

3. Анализ экспрессии аберрантных рецепторов и/или гиперэкспрессии эутопических рецепторов методом иммуногистохимического исследования в послеоперационном материале.

Критерии включения: образцы тканей удаленных надпочечников у пациентов с установленным диагнозом МДГН, которым было проведено хирургического лечение в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России

Тип исследования: одноцентровое, одномоментное исследование по типу «случай–контроль»

Контрольная группа: образцы неопухолевой ткани коры удаленных надпочечников у пациентов с феохромоцитомами, которым было проведено хирургического лечение в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Количество пациентов: 28 пациентов с МДГН, 14 пациентов в контрольной группе.

2.3. Клиническое обследование

Все участники осматривались врачом-исследователем для оценки соответствия критериям включения и исключения. План первичного обследования пациента включал сбор жалоб, анамнеза жизни, заболевания, семейного анамнеза, физикальное обследование больного.

В рамках сбора анамнеза уточнялось наличие сопутствующих хронических заболеваний, онкологического анамнеза, прием лекарственных препаратов и биодобавок, особенно пристально уделялось внимание на группы лекарственных веществ, потенциально влияющих на уровни кортизола в крови/суточной моче и результаты фармакологических тестов, проводимых для диагностики эндогенного гиперкортицизма, а также гинекологический анамнез у женщин.

Масса тела измерялась в легкой комнатной одежде с помощью медицинских весов, рост измерялся с помощью настенного стадиометра с точностью до сантиметра. ИМТ рассчитывался по формуле: $ИМТ = m/h^2$, где m – масса тела (кг), а h – рост (м).

Всем пациентам с сопутствующей АГ проводилась консультация кардиолога ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России для установления степени гипертонической болезни, стадии АГ для инициации/коррекции антигипертензивной терапии.

2.4. Методика забора биологического материала и проведения фармакологических тестов

Сбор биологических образцов проводился в различных отделениях Института клинической эндокринологии, а также консультативно-диагностическом центре ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отделением – д. м. н. Волеводз Н. Н.).

– *Забор крови из периферической вены* (АКТГ, кортизол) выполнялся в утреннее время натощак в промежуток с 8:00 до 09:00.

– *Сбор суточной мочи* осуществлялся пациентом в течение 24 часов в одну емкость. После завершения сбора мочи, собранный материал перемешивается, образец мочи объемом не менее 50 мл доставлялся в лабораторию, при этом учитывается общий объем мочи. Пациенту было рекомендовано соблюдать обычный питьевой режим, избегать эмоциональных стрессов, физических нагрузок (спортивных тренировок), исключались препараты, способные повлиять на содержание кортизола в образце суточной мочи, а также диуретики.

– *Ночной подавляющий тест с 1 мг дексаметазона (ПДТ1):* 1 мг дексаметазона принимается между 23 и 24 часами, на следующее утро в интервале между 8:00–9:00 определяется уровень кортизола в крови. Согласно действующим клиническим рекомендациям, точка cut-off определена на уровне 50 нмоль/л.

2.5. Лабораторные методы исследования

Исследования были выполнены в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующая КДЛ – к. м. н. Никанкина Л. В.)

Для подтверждения гормональной активности МДГН всем пациентам ($n = 110$) проводилось определение уровня кортизола в сыворотке крови на фоне вечернего приема 1 мг дексаметазона. Исследование уровня АКТГ и кортизола выполнено на электрохемилюминесцентных анализаторах фирмы Roche (Cobas 6000 Modulee601) стандартными наборами фирмы F. Hoffmann-La Roche Ltd). При положительном результате ПДТ1 (кортизол более 50 нмоль/л), пациентам ($n = 99$) исследовался уровень свободного кортизола в суточной моче иммунохемилюминесцентным методом на аппарате Vitros Eci с предварительной экстракцией эфиром. Референсные значения лаборатории: АКТГ – 7–66 пг/мл, свободный кортизол суточной мочи – 60–413 нмоль/сут.

При наличии у пациента нецелевых показателей глюкозы плазмы крови натощак ($> 6,1$ ммоль/л), для исключения наличия нарушений углеводного обмена, в соответствии с действующими на момент исследования клиническими рекомендациями, проводился оральный глюкозотолерантный тест. Всем пациентам ($n = 47$) с установленным диагнозом СД определялся гликированный гемоглобин (HbA1c; референсные значения 4,0–6,0%), который исследовался методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на автоматическом анализаторе D10 (BioRad Laboratories, США) с использованием наборов того же производителя по стандартной методике; метод сертифицирован NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program).

2.6. Инструментальные методы исследования

Всем пациентам выполнялось КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства (КТ ОБП и ЗП) в отделении компьютерной и магнитно-резонансной томографии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующая отделением – к. м. н. Тарбаева Н. В.)

КТ ОБП и ЗП проводилась на мультidetекторном компьютерном томографе Optima CT660 фирмы General Electric. Толщина срезов при исследовании составляла 0,625 мм. Область сканирования – от диафрагмы до седалищных бугров. При необходимости выполнялось внутривенное болюсное контрастирование (в/в КУ) не ионным контрастным веществом (Йомепрол 400 мг/мл). Введение контрастного вещества (КВ) осуществлялось через катетер двухколбовым автоматическим инъектором. Скорость в/в введения КВ – 3–4 мл/с, доза – 100 мл. Оценка артериальной и портальной фаз контрастирования осуществлялась на 5 и 20 секундах с момента достижения порогового контрастирования аорты. Экскреторную (отсроченную) фазу проводили на 10 минуте от начала введения КВ.

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 ($V_{сф}$), который равняется четверть третьим произведения его радиуса (r) в кубе и числа π ($V_{сф} = 4/3 \pi r^3$). 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.

2.7. Хирургическое лечение

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. ФАПК (субклиническая форма СК) 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 трансабдоминальным или ретроперитонеальным доступом. Учитывая тот факт, что размер поражения надпочечника по данным большинства исследователей практически всегда коррелирует со степенью избытка кортизола (см. обзор литературы), 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) регрессе клинических симптомов гиперкортицизма при манифестной форме СК;
- 3) развития клинических признаков НН (стойкая гипотония, 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 (пункт 1–3). Пункты 4 и 5 использовались дополнительно, так как могли лишь косвенно свидетельствовать о рецидиве СК.

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

В большинстве случаев, хирургическое лечение манифестных форм было проведено в сроки до 2 месяцев с момента установки диагноза. Все оперативные вмешательства выполнены в отделе хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий отделом – д. м. н. проф. Кузнецов Н. С.)

2.8. Морфологический и иммуногистохимические методы исследования

Патоморфологическое исследование и ИГХ-исследование удаленных надпочечников проводилось в отделе фундаментальной патоморфологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель отдела фундаментальной патоморфологии к.м.н. – Урусова Лилия Сергеевна).

Окончательный нозологический диагноз МДГН устанавливался на основании результатов гистологического исследования послеоперационного материала.

2.8.1. Морфологическое исследование

Приготовление гистологических препаратов проводилось по стандартной методике. Гистологический материал МДГН, полученный в ходе оперативного вмешательства пациентов в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, фиксировали в 10%-м забуференном формалине, обрабатывали в аппарате гистологической проводки фирмы Leica ASP6025 и заливали в парафин. Суммарное время фиксации, проводки, а также заливки материала, как правило, не превышало 48 часов. Далее готовили серийные срезы толщиной 3–4 мкм (не менее 10 срезов), которые впоследствии были помещены на полилизиновые стекла (Leica, Германия) и инкубированы в термостате при температуре 37 °С в течение 12 часов. Затем срезы последовательно депарафинировали в ряде растворов, состоящих из 3 ксилолов, 2 абсолютных спиртов, 80%-го и 70%-го спирта, дистиллированной воды. После чего препараты окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике.

При гистологическом исследовании образцы верифицировали в соответствии с Международной гистологической классификацией заболеваний надпочечника (ВОЗ, 2022).

2.8.2. Иммуногистохимическое исследование

ИГХ-исследование проводилось на срезах ткани толщиной 3 мкм, помещенных на полилизиновые стекла (Leica, Германия) и инкубированы в термостате при температуре 37 °С в течение 12 часов. ИГХ исследование проводили на полностью автоматизированном иммуногистостейнере (Leica Bond III, Германия) с использованием безбиотиновой полимерной системы Bond Polymer Refine Detection System, необходимой для депарафинизации срезов, инкубации с антителами при постоянной температуре, ферментативской демаскировки антигенов, высокотемпературной демаскировки антигенов в буферах pH 6,0 и 9,0, подкраски препаратов гематоксилином. Исследование проводилось с антителами в соответствии с представленными протоколами, рекомендованными фирмой-производителем антител, а также проводились положительные и отрицательные контроли в соответствии со спецификациями, представленными в Таблице 2.

Все гистологические препараты были отсканированы при помощи сканирующей системы Leica, предназначенной для получения изображений гистологического материала в высоком разрешении. Данный сканер позволяет получить полноценное изображение, которое можно многократно увеличивать и проводить анализ, аналогично работе с обычным микроскопом.

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 внутриадrenalовая экспрессия АКТГ.

Проводили полуколичественную оценку результатов ИГХ-реакций.

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-5TH7 antibody	ab61823	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Мозжечок	Лимфоидная ткань
Anti-hCG receptors/ LHR antibody	ab125214	Кроличье/ поликлональное	Abcam	1:100	Карцинома яич- ника	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 Adrener- gic Receptor antibody	SAB45005 48	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 (+++).

2.9. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов выполнялся в сотрудничестве с Елфимовой А. Р.

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.

Этическая экспертиза. Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 17 Заседания локального этического комитета от 28.10.2020, постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Среди 123 пациентов, первоначально обратившихся за консультативной помощью в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России», в результате первичного скрининга было отобрано 110 пациентов с МДГН.

Всем пациентам выполнена топическая диагностика узловых образований надпочечников, включающая КТ надпочечников, как правило, без контрастного усиления, однако в ряде случаев (при получении данных за высокоплотные образования в нативном режиме) проводилось в/в контрастирование, также проведено гормональное обследование, включающее определение кортизола в ходе ночного подавляющего теста, уровня АКТГ, определение свободного кортизола суточной мочи (СКМ).

Исключалась возможная другая/сочетанная гормональная активность.

На этапе клинического обследования из 123 пациентов с двусторонними образованиями надпочечников были исключены 10, в связи с наличием критериев исключения: ВДКН ($n = 3$), беременность ($n = 1$), наличие онкологического анамнеза/подозрение на вторичное поражение надпочечников ($n = 4$), других гормонально-активных образований надпочечников ($n = 5$). Из 110 пациентов показания к хирургическому лечению выявлены у 51.

Всем пациентам ($n = 44$) выполнена односторонняя эндоскопическая адреналэктомия с узловыми образованиями, с последующим определением уровня кортизола в 1-е сутки, исключением являлись пациенты, у которых в раннем послеоперационном периоде зафиксированы признаки надпочечниковой недостаточности, которым незамедлительно инициировалась заместительная гормональная терапия. Период динамического наблюдения за пациентами после операции варьировал от 3 до 82 месяцев, медиана наблюдения 18 [12; 36] месяцев.

При отсутствии ремиссии, высоком уровне послеоперационного кортизола, взятого на 1-е сутки ($n = 3$), или при развитии рецидива ($n = 4$), пациентам вторым этапом выполнялась тотальная адреналэктомия ($n = 6$).

Одна пациентка отказалась от повторного оперативного вмешательства, ей была предложена консервативная терапия, на фоне которой отмечается положительная динамика в виде нормализации показателей кортизола.

Среди 44 прооперированных пациентов были отобраны 28 образцов тканей для ИГХ-анализа.

3.1. Общая характеристика пациентов

Характеристика пациентов с макронодулярной двусторонней гиперплазией надпочечников (МДГН) представлена в Таблице 3.

Таблица 3 – 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%)

Далее был 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.

Результаты анализа представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – 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 ПДГ1 (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	–
Кол-во саха- роснижающих 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 сердеч- ных 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 $P_0 = 0,05/16 = 0,003$

С учетом поправки Бонферрони $P_0 = 0,003$ статистически значимые различия обнаружены по возрасту, объему узловой ткани, уровню кортизола после ПДТ1, АКТГ и СКМ, частоты стадий АГ различались на уровне статистической тенденции ($p = 0,019$).

Таким образом, пациенты с МДГН без гормональной активности были старше и характеризовались значимо меньшим объемом образования, меньшим уровнем кортизола после ПДТ1 и СКМ, а также большим значением АКТГ. В свою очередь, группа пациентов с манифестным СК характеризовалась большими значениями кортизола после ПДТ1 – 540,0 [295,0; 718,0] и СКМ 816,0 [484,0; 1607,0], чем группа пациентов с ФАПК (192,0 [102,0; 490,0] и 452,0 [269,0; 900,0], соответственно).

Более того, не выявлено статистически значимого различия в распространенности ассоциированных с СК заболеваний (СД, АГ, остеопороз), в равной степени показатель ИМТ не отличался среди вышеуказанных групп ($p = 0,56$).

С целью нахождения взаимосвязей между объемом узловой ткани и гормональными показателями был проведен корреляционный анализ (Таблица 5).

Таблица 5 – 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</i> – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/3 = 0,017$			

В результате корреляционного анализа были выявлены статистически значимые положительные умеренные корреляции между уровнем кортизола после ПДТ1, СКМ и объемом образования, а также отрицательная умеренная корреляция между объемом и уровнем АКТГ, что свидетельствует о том, что увеличение объема узловой ткани МДГН, приводит к усилению стероидогенеза, более значительную супрессию АКТГ, и, как следствие, ухудшению течение СК.

На следующем этапе был проведен сравнительный анализ (таблица 6) подгрупп пациентов с различными уровнями АКТГ:

- АКТГ < 1 пг/мл;
- АКТГ 1,1–5 пг/мл;
- АКТГ 5,1–7,2 пг/мл;
- АКТГ > 7,3 пг/мл.

Таблица 6 – Сравнительный анализ пациентов с различными уровнями АКТГ (n = 110)

Признак	АКТГ < 1 пг/мл (группа 1)		АКТГ 1,1–5 пг/мл (группа 2)		АКТГ 5,1–7,2 пг/мл (группа 3)		АКТГ >7,3 пг/мл (группа 4)		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 (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)		
ИМТ (кг/м ²)	30	30,7 [27,6; 34,7]	36	30,0 [25,7; 34,5]	8	28,0 [26,8; 30,1]	30	28,3 [25,0; 34,0]	0,809 ¹	–
Клинический СК	30	15 (50%)	37	12 (32%)	11	0 (0%)	32	4 (13%)	0,001³	p ₁₋₂ = 1,000 p ₁₋₃ = 0,018 p ₁₋₄ = 0,013 p ₂₋₃ = 0,265 p ₂₋₄ = 0,507 p ₃₋₄ = 1,000
АГ	30	29 (97%)	37	32 (87%)	11	9 (82%)	32	25 (78%)	0,192 ²	–
СД	30	12 (40%)	37	17 (46%)	11	4 (36%)	32	12 (38%)	0,886 ²	–
Остеопороз	24	5 (21%)	26	6 (23%)	8	0 (0%)	24	5 (21%)	0,613 ³	–
Примечание – ¹ – критерий Краскелла – Уоллиса; ² – критерий χ^2 ; ³ – точный двусторонний критерий Фишера; ⁴ – поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/5 = 0,01$										

С учетом поправки Бонферрони $P_0 = 0,01$ статистически значимые различия обнаружены только по частоте клинических явлений манифестного СК. В группе пациентов с АКТГ < 1 пг/мл большая частота клинического Кушинга по сравнению с группой АКТГ > 7,3 пг/мл. В группе с АКТГ = 5,1–7,2 пг/мл пациенты с клиническим Кушингом отсутствовали.

3.1.1. Обсуждение полученных результатов

В работе представлены данные первичного обследования 110 пациентов, средний возраст которых составил 60 лет, соотношение женщин и мужчин ~ 5:1, что, в целом, соответствует данным зарубежных исследований [35]. 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%). В популяционных выборках на долю МДГН без гормональной активности приходится 58–73,7% [164], [209]. Это расхождение в результатах может быть объяснено тем, что пациенты с ФАПК имеют более яркие клинические симптомы и/или более тяжелое течение сопутствующих заболеваний, что влечет за собой более высокую обращаемость пациентов к врачу и, как следствие, более тщательное обследование. Более того, учитывая ограниченную репрезентативность выборки, полученные нами результаты не представляется возможным экстраполировать на общую популяцию.

Полученные данные по гормональному обследованию пациентов, в целом согласуются с данными мировой литературы, однако, у части пациентов (n = 22) с МДГН с ФАПК, несмотря на отрицательный ПДТ1 и сниженный АКТГ, СКМ был в пределах референсного интервала. Нами

было выдвинуто несколько гипотез касательно данного феномена. Концепция первой теории базируется на данных о существовании различных факторов в сыворотке крови, оказывающих влияние на концентрацию свободного кортизола. Кроме кортизол-связывающего белка (ТК), сыворотка крови содержит факторы (сывороточные факторы роста и цитокины), способные давать переменные и искусственно измененные результаты в зависимости от коэффициента разбавления, концентрации несвязанного кортизола и концентрации ТК в биологических или физико-химических анализах биодоступных или свободных стероидов [167]. На данный момент отечественных и зарубежных работ по определению данных показателей у пациентов с МДГН не проводилось. Многообещающим является проведение дополнительных исследований о роли ТК и других факторов, способных в том числе оказать влияние на результаты гормонального обследования. Вторая гипотеза основывается на данных о неэффективном стероидогенезе при МДГН. У пациентов с МДГН экскретируются с мочой различные метаболиты глюкокортикоидов, которые не обнаруживаются при исследовании СКМ [83]. Перспективно проведение мультистероидного анализа крови и мочи на более широкой выборке пациентов с МДГН с целью выявления новых диагностических тестов, которые будут более специфичны для пациентов с данной группой патологии.

Следующим этапом определялись показания к хирургическому лечению. По результатам гормонального обследования пациенты были разделены на три группы: МДГН без гормональной активности ($n = 41$), МДГН с манифестной формой СК ($n = 28$), МДГН с ФАПК ($n = 41$). В группе пациентов с образованиями надпочечников и отсутствием признаков гиперсекреции гормонов ($n = 41$) за период наблюдения не было зафиксировано ни одного случая возникновения ФАПК, что соответствует данным последних исследований на большей выборке больных (Cawood и соавт.; Terzolo и соавт.), где этот риск составлял 0,1% [33], [204]. В связи с этим ставится под сомнение необходимость систематического последующего гормонального обследования у данной группы больных.

Пациентам с бессимптомной ФАПК ($n = 3$) адреналэктомия не проводилась, в связи с отсутствием клинической значимости оперативного вмешательства, но при этом увеличивающейся вероятности ухудшения качества жизни (риски операции, анестезии, послеоперационная надпочечниковая недостаточность и необходимость ее коррекции). Данные пациенты проходили динамическое обследование не реже 1 раза в год. Период наблюдения за пациентами составил не менее 12 месяцев, за это время выявлен 1 случай ухудшения течения ФАПК, в связи с чем данному пациенту было рекомендовано оперативное лечение.

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 сохранным 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 ($p_{1-3} = 0,018$, $p_{1-4} = 0,013$). Причина наличия клинических проявлений СК при несупрессированном АКТГ может лежать в наличии у исследуемых субъектов псевдокушингоидных состояний, а также субъективной оценкой наличия/отсутствия клинических проявлений манифестной формы СК врачом-исследователем.

В результате корреляционного анализа были выявлены статистически значимые положительные умеренные корреляции между объемом узловой ткани и уровнем кортизола после ПДТ1 ($r = 0,40$; $p < 0,001$), СКМ ($r = 0,29$; $p < 0,004$), а также отрицательная умеренная корреляция между объемом и уровнем АКТГ ($r = -0,40$; $p < 0,001$). Необходимо также отметить, что у части пациентов с ФАПК без «манифестного гиперкортицизма» ($n = 4$) при увеличении размеров узловых образований в ходе динамического наблюдения была зафиксирована более выраженная гормональная активность узловых образований. Полученные данные в целом соответствуют ранее опубликованным данным [218].

При определении показаний к оперативному лечению у пациентов с ФАПК, в первую очередь, оценивались тяжесть течения коморбидных состояний, наличие/отсутствие их компенсации, а также принимаемую медикаментозную терапию. При анализе распространенности и клинической выраженности сопутствующей патологии в данной группе больных СД диагностирован у 22 (53,7%), АГ у 36 (87,8%), ожирение и нарушения минерально-костного обмена – 23 (56%) и 3 (7,3%) пациентов соответственно, что в целом согласуется с более ранними литературными данными, однако, впервые продемонстрированы на отечественной выборке [232]. При сопостав-

лении групп с гормонально-активными и неактивными формами МДГН, не выявлено статистически значимое различие в распространенности ассоциированных с СК заболеваний (СД, АГ, остеопороз), в равной степени показатель ИМТ не отличался среди вышеуказанных групп ($p = 0,56$). Полученные результаты ещё раз подчеркивают трудность в определении четких показаний к хирургическому лечению в группе пациентов с ФАПК. При удовлетворительной компенсации СД и АГ нами, как правило, применялась выжидательная тактика под контролем гормональных показателей, а также гликемии, АД и веса каждые полгода. При прогрессирующем снижении уровня АКТГ, ухудшении течения сопутствующих состояний пациентам было рекомендовано оперативное лечение.

Немаловажным в определении времени проведения оперативного лечения является возраст пациента. У пациентов моложе 50 лет ввиду более ранней манифестации заболевания, и как следствие, более длительного влияния гиперкортизолемии на различные органы и системы организма, данная группа пациентов имеет более высокие кардиоваскулярные риски, склонность к прибавке в массе тела, развития нарушений углеводного обмена. Вследствие чего, пациентам с МДГН с ФАПК моложе 50 лет целесообразно рассмотрение хирургического лечения на более ранних сроках несмотря на отсутствие клинических симптомов или сопутствующих заболеваний.

3.12. Клинический случай 1

У пациентки З., 74 лет, с длительным анамнезом АГ и остеопорозом смешанного генеза, в 2013 впервые, по данным УЗИ, в области правого надпочечника выявлено овальное гипоэхогенное образование с четкими ровными контурами, $р. 25 \times 14 \times 21$ мм. Гормональная активность образования не исключалась. В анамнезе в 2010 году зафиксирован компрессионный перлом Th12. Проведена остеоденситометрия, диагностирован остеопороз поясничного отдела позвоночника, в связи с чем по месту жительства инициирована антиостеопоротическая терапия (бисфосфонаты, препараты кальция, нативные препараты витамина Д).

В 2015 году находилась на стационарном лечении в УКБ им. Сеченова, где впервые проведено гормональное обследование, в ходе которого исключены первичный гиперальдостеронизм (ренин 3,4 ме МЕ/мл, альдостерон 173 пг/мл) и феохромоцитома (метанефрин 103 мкг/сут, норметанефрин 124 мкг/сут), однако диагностирована МДГН с ФАПК (АКТГ 3,9 пмоль/л, кортизол на фоне дексаметазоновой пробы 84 нмоль/л, суточная моча 186 мкг/сут). Проведено КТ органов брюшинного пространства, по данным которого в телах обоих надпочечников объемные образования низкой плотности с четкими контурами $р. 25 \times 22 \times 26$ мм (справа) и $17 \times 21 \times 21$ мм (слева). При контрольной денситометрии сохраняется остеопороз поясничного отдела позвоночника с максимальным снижением МПК до -3,3 по Т-критерию в L4. С учетом отсутствия медицин-

ской документации ранее проведенных исследований, оценить динамику показателей не представляется возможным. Проведено обследование возможных сопутствующих заболеваний, по результатам ОГТТ (0 мин – 5,8 ммоль/л, +120 мин – 7,67 ммоль/л) нарушений углеводного обмена не выявлено. АГ 2 степени с достижением нормотонии на двухкомпонентной терапии (иАПФ, блокатор медленных кальциевых каналов).

В 2016 году при повторной госпитализации запланировано проведение проб на аберрантные рецепторы. С учетом нецелевого (несупрессированного) уровня АКТГ предварительно была проведена соответствующая подготовка Дексаметазоном 1 мг/каждые 6 часов в течение 48 часов. Проведены стимулирующие тесты: ортостатическая (кортизол 73,9/ 89,9/ 91,3/ 82,5/ 79,9 ммоль/л), пищевая (кортизол 89,3/ 111,2/ 115,9/ 109,2 ммоль/л) и ЛГ-стимулирующая пробы (71,5 / 77,6/ 80,0/ 84,3 ммоль/л). Значимого повышения кортизола не отмечено. Учитывая отсутствие выраженной коморбидности (нарушения углеводного обмена, трудно корригируемой артериальной гипертензии, ожирения, тяжелого остеопороза), рекомендовано динамическое наблюдение с контролем АКТГ, кортизола суточной мочи, контроль АД, показателей углеводного обмена через 6 месяцев.

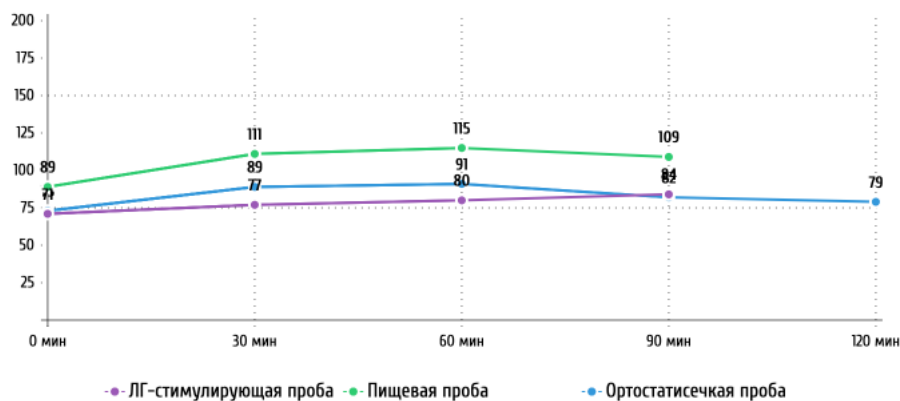


График 1 – Динамика показателей кортизола на фоне стимулирующих тестов (ЛГ-стимулирующая, пищевая и ортостатическая проба)

С 2016 по 2019 гг. ежегодно проходила обследование по месту жительства. По данным МСКТ ОБП выявлен рост образования правого надпочечника (+2 см), в связи с чем пациентка обратилась на консультацию в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. При физикальном обследовании – ИМТ 28,1 кг/кв.м (Рост – 161 см, вес – 73 кг), отмечалось перераспределение подкожно-жировой клетчатки по абдоминальному типу, лицо с телеангиectазиями. В ходе гормонального обследования также выявлена отрицательная динамика: сниженный уровень базального АКТГ – 2 пг/мл, увеличение уровня кортизола на фоне ПДТ1 – 163 ммоль/л, при референсном показателе СКМ. Вследствие повышения глюкозы натощак проведен ОГТТ, в ходе которого зафиксировано повышение глюкозы на 120 мин до 11,3 ммоль/л, что свидетельствовало

о наличии у пациентки сахарного диабета. Гликированный гемоглобин 6,0%. Иницирована сахароснижающая терапия метформином 2000 мг/сутки, рекомендовано нормокалорийное питание с исключением легко усваиваемых углеводов и жиров животного происхождения. В связи с отсутствием достижения индивидуальных целевых показателей АД пациентке скорректирована антигипертензивная терапия (к терапии добавлен тиазидный диуретик) с положительным эффектом. Также впервые выявлено нарушение липидного обмена в связи с чем пациентке был рекомендован прием статинов. По данным предоставленных результатов денситометрии от 2018г. – отмечается положительная динамика на фоне антиостеопоротической терапии, снижение МПК до -2,6 по Т-критерию в поясничном отделе позвоночника, что соответствует остеопорозу. В проксимальном бедренной кости снижение МПК до -2,2 по Т-критерию, что соответствует остеопении. Данных по контрольной денситометрии за 2019 г. – не предоставлено.

В связи с наличием ФАПК, отрицательной динамикой роста образования надпочечника по данным МСКТ ОБП, а также вследствие ухудшения течения сопутствующих заболеваний, пациентке была рекомендована односторонняя адреналэктомия.

Госпитализирована в октябре 2020 г. в отдел хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России для проведения оперативного вмешательства. При физикальном обследовании обращает на себя внимание изменение внешности пациентки (отсутствие кушингоидных черт) и снижение веса на 13 кг (ИМТ 23,1 кг/кв.м (Рост – 161 см, вес – 60 кг). При сборе анамнеза отмечено, что после выявленного СД 2 типа, а также нарушений липидного обмена, пациентка придерживалась достаточно строгого режима питания, из рациона были исключены все легкоусвояемые углеводы, а также животные жиры, сложные углеводы были ограничены до 9 ХЕ в день. На фоне ограничений в питании пациенткой была отмечена значительная потеря массы тела (13 кг за год), снижение уровня АД, потребовавшего коррекцию антигипертензивной терапии, субъективное улучшение самочувствия. Проведено повторное обследование пациентки в стационаре, в ходе которого выявлена нормализация уровня АКТГ – 9,8 пг/мл. Гликированный гемоглобин составил 5,4%. В условиях отсутствия данных за гормональную активность образований, снижение веса, медикаментозно корригируемых сопутствующих заболеваний, показаний к оперативному вмешательству на момент госпитализации не было, рекомендовано динамическое наблюдение.

При повторной явке пациентки на консультацию в октябре 2021г., клинического ухудшения состояния не отмечено. Вес стабилен. По данным контрольного обследования: АКТГ 6,3 пг/мл, кортизол в ходе ПДТ с 1 мг – 126 нмоль/л, СКМ – 232 мкг/сут, гликированный гемоглобин 5.9%. При МСКТ ОБП от 22.10.2021 – без динамики по сравнению с 2020 г. (данные обследования пациентки представлены в Таблице 7).

Таблица 7 – Данные гормонального и инструментального обследования (в динамике с 2013 г.)

	АКТГ (7–63,3 пг/мл)	ПДТГ (N < 50 ммоль/л)	СКМ (100–379 ммоль/сут)	КТ органов забрюшинного пространства
2013 г.	–	–	–	Справа р. 25×22×26 мм, слева р. 17×21×21 мм
2015 г.	3,9	84	186	Без динамики
2019 г.	2	163	300	Справа р. 45×23×30 мм, структура образования диффузно неомогенная плотностью до 18–20 НУ, слева р. 20×20×27 мм плотностью 0 НУ
2020 г.	9,8	109	–	Справа 46×23×29 мм плотностью до 16 НУ, слева р. 25×18×19 мм плотностью до -3 НУ, р. 7×9×5 мм, плотностью до 16 НУ
2021 г.	6,3	126	232	Без динамики
2022 г.	11,9	114	324	Без динамики

Резюме

Приведенный клинический случай иллюстрирует, как ограничение углеводов и жиров в рационе питания привело к нормализации уровня кортизола и АКТГ, что с высокой долей вероятности свидетельствует о наличии у данной пациентки ГИП-зависимого или «пищевого» СК, который проявляется постпрандиальной гиперкортизолемией, являющейся адреналовым ответом на выработку ГИП. Уменьшение главных стимуляторов секреции ГИП – глюкозы (углеводы) и триглицериды, ведет к снижению постпрандиальной выработки ГИП, что в свою очередь привело к активизации GIPR расположенных на мембране стероидогенных клеток надпочечников. Остается неясной причина, по которой при первичном проведении тестов на наличие aberrantных рецепторов значимой стимуляции GIPR не выявлено, тем не менее, необходимо отметить, что небольшой прирост кортизола был выявлен именно на пищевой пробе (+29%). Возможно, это связано с временем проведения данных проб, на момент 2016 г. узловые образования были не большого размера.

На данном примере можно также отметить, что нарастание объема опухолевой массы, по всей вероятности, привело к более выраженному проявлению симптомов гиперкортицизма. Отсутствие яркой клинической симптоматики СК в начале заболевания, вероятно, связано с небольшим количеством гиперплазированной узловой массы надпочечников при низкой стероидогенной ферментативной способности. Клинически манифестный СК начал проявляться только через несколько лет после установки диагноза, когда объем узловой массы надпочечника увеличился практически вдвое. Данный клинический пример демонстрирует классическое течение МДГН с ФАПК, при которой гиперкортицизм протекает практически незаметно. Рост узлов и избыток кортизола медленно прогрессируют, затрудняя постановку диагноза в большинстве случаев на несколько лет или десятилетий. Многие пациенты имеют стертую клиническую картину, ввиду

чего диагноз МДГН с ФАПК не устанавливается до тех пор, пока исследования брюшной полости, выполненные по другой причине, не выявят двустороннее увеличение надпочечников, что приведет за собой дальнейшее гормональное обследование.

Необходимы дополнительные исследования для поиска возможности проведения консервативного лечения у пациентов с МДГН и ГИП-зависимым СК, в том числе исследование эффективности диетических ограничений в сравнении с альтернативным лечением аналогами соматостатина. Несмотря на то, что вероятность ускользания данного эффекта (нормализация кортизола) весьма велика, что обусловлено прогрессирующим ростом узлов в течение жизни и, как следствие, нарастания клинической симптоматики, возможно рассмотрение данного определенного режима питания, как одного из способов отсрочивания хирургического вмешательства, однако, для формирования рекомендаций данные требуют проверки воспроизводимости и дальнейшего изучения.

3.2. Результаты односторонней адреналэктомии у пациентов с гиперкортицизмом при МДГН

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. Был проведен сравнительный анализ пациентов до и через 6 месяцев после операции по ИМТ, показателям гормонального обследования (кортизол после ПДТ1, СКМ и АКТГ), HbA1c, количеству сахароснижающих препаратов и частоте АГ. Результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – 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]	< 0,001 ¹
Кортизол после ПДТ1 (нмоль/л)	16	466 [173; 652]	16	86 [61; 149]	< 0,001 ¹
СКМ (нмоль/сут)	22	840 [468; 1892]	22	267 [204; 432]	< 0,001 ¹
АКТГ (пг/мл)	30	1 [1; 2,1]	30	8,3 [2,6; 15,0]	< 0,001 ¹
HbA1c (%)	22	7,0 [6,3; 7,7]	22	6,0 [5,6; 6,7]	< 0,001 ¹
Количество получаемых СД препаратов	44	0 [0; 1]	44	0 [0; 1]	0,109 ¹
АГ	39	37 (95%)	39	27 (69%)	0,004 ²
<i>Примечание</i> – 1 – критерий Вилкоксона; 2 – критерий Мак-Немара; поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/7 = 0,007$					

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. Были получены статистически значимые изменения в ИМТ, данным показатель снизился с 30,8 [27,5; 34,4] до 28,5 [23,9; 32,2] ($p <0,01$). При анализе эффекта ОА на углеводный обмен, также получены удовлетворительный результаты – зафиксировано уменьшение уровня HbA1c с 7,0 [6,3; 7,7] до 6,0 [5,6; 6,7] ($p <0,01$). В случае, когда у пациентов наблюдалась симптоматическая АГ ($n = 10$) в послеоперационном периоде на фоне отсутствия антигипертензивной терапии была достигнута нормотония.

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.

Далее 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 (Таблица 9).

Таблица 9 – Сравнительный анализ пациентов с манифестным и клиническим Кушингом ($n = 44$)

Признак	Манифестный Кушинг		ФАПК		<i>p</i>
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	
Ремиссия	21	18 (86%)	23	22 (96%)	0,269 ³
НН	21	13 (62%)	23	13 (57%)	0,717 ²
Длительность НН (мес)	13	6 [6; 12]	13	4 [2; 9]	0,152 ¹
ΔКортизол после ПДТ1 (нмоль/л)	8	-492 [-589; -153]	8	-111 [-334; -74]	0,083 ¹
ΔСКМ (нмоль/сут)	11	-793,0 [-2075,0; -428,3]	11	-280,0 [-826,0; 11,0]	0,088 ¹
ΔАКТГ (пг/мл)	14	2,95 [0,90; 9,00]	16	8,80 [5,05; 16,00]	0,056 ¹
ΔHbA1c (%)	9	-0,7 [-2,5; -0,3]	13	-0,6 [-1,1; -0,4]	0,947 ¹
ΔИМТ (кг/м ²)	21	-2,4 [-4,7; -1,2]	23	-2,1 [-4,3; -0,5]	0,275 ¹
ΔКоличество получаемых СД препаратов	21	0 [0; 0]	23	0 [0; 0]	0,780 ¹

Примечание – ¹ – критерий Манна – Уитни; ² – критерий χ^2 ; ³ – точный двусторонний критерий Фишера; поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/9 = 0,006$

В результате, между группами с различными формами СК при МДГН, по данным сравнительного анализа 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.

На следующем этапе были проанализированы исходы ОА:

- 1) НН,
- 2) ремиссия,
- 3) рецидив

Был проведен сравнительный анализ пациентов с наличием/отсутствием НН по характеристикам объема и процента удаленной ткани, а также показателям гормонального обследования. Результаты представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Сравнительный анализ групп с наличием и отсутствием НН (n = 44)

Признак	НН есть		НН нет		p, критерий Манна – Уитни
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] / 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
<i>Примечание</i> – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/6 = 0,008$					

По результатам анализа можно заключить, что развитие НН не зависит от объема остаточной ткани или от процента удаленной узловой ткани.

Гормональные показатели до операции также не позволят спрогнозировать вероятность развития НН.

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 2.

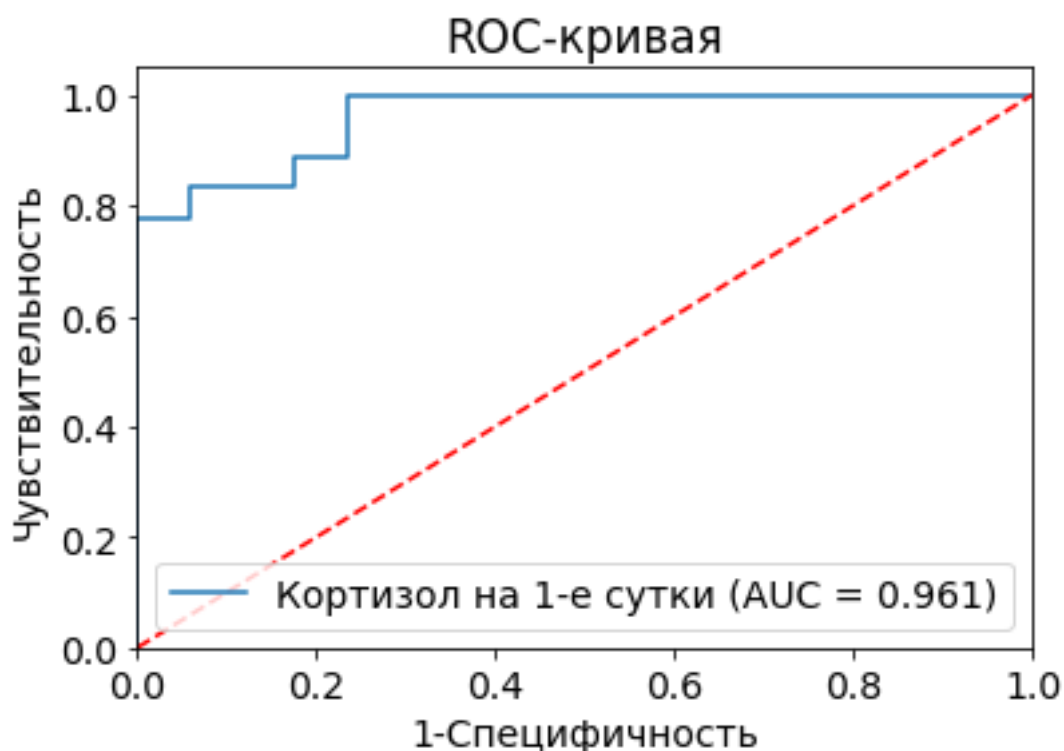


Рисунок 2 – ROC-анализ уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики НН

AUC = 0,961 (95%-й ДИ 0,894–1,000), что говорит о высокой диагностической эффективности 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 11.

Таблица 11 – 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 \geq 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%.

Следующим этапом было исследование возможных факторов, оказывающих влияние на длительность НН. Проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Корреляционный анализ длительности НН с уровнями кортизола в ходе ПДТ1, СКМ, АКТГ (n = 26)

<i>Признаки</i>	<i>N</i>	<i>R, коэффициент корреляции</i>	<i>p, метод Спирмена</i>
Длительность НН & Объем остаточной ткани	26	–	0,868
Длительность НН & Процент удаленной опухолевой ткани	26	–	0,863
Длительность НН & ПДТ1 до операции	26	–	0,544
Длительность НН & СКМ до операции	25	–	0,900
Длительность НН & АКТГ до операции	26	–	0,866
Примечание – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/5 = 0,01$			

А также был проведен корреляционный анализ между объемом остаточной ткани и уровнем кортизола на 1-е сутки (Таблица 13).

Таблица 13 – Корреляционный анализ между объемом остаточной ткани и уровнем кортизола на 1-е сутки (n = 35)

<i>Признаки</i>	<i>N</i>	<i>R, коэффициент корреляции</i>	<i>p, метод Спирмена</i>
Объем остаточной ткани & Уровень кортизола на 1-е сутки	35	–	0,420

По результатам анализа можно констатировать, что, как и сам факт развития НН, длительность НН не зависит ни от одного из факторов: объема остаточной ткани, процента удаленной узловой ткани, уровней АКТГ, СКМ и кортизола в ходе ПДТ1 на дооперационном этапе. Статистически значимые корреляции между объемом остаточной ткани и уровнем кортизола, определенного на 1-е сутки после ОА, не были обнаружены.

Проведен анализ факторов, оказывающих потенциальное влияние на результат оперативного лечения.

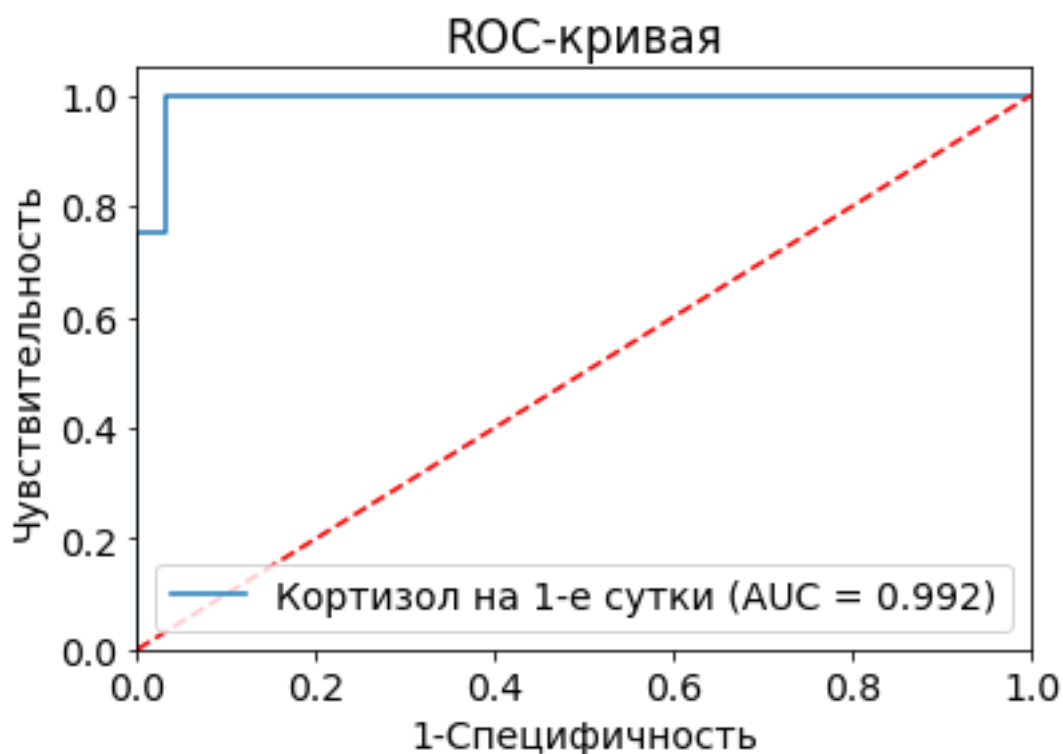
Основными факторами, рассматриваемыми в качестве предикторов эффективности оперативного лечения, являлись объем остаточной ткани, доля удаленной ткани, гормональными показатели на дооперационном этапе (кортизол в ходе ПДТ1, СКМ, АКТГ), а также уровень кортизола, определенного на 1-е сутки.

Таблица 14 – Сравнительный анализ групп с наличием и 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
<i>Примечание</i> – Поправка Бонферрони $P_0 = 0,05/6 = 0,008$					

В результате сравнительного анализа было показано, что уровень СКМ до операции выше в группе пациентов с отсутствием ремиссии на уровне статистической тенденции. Уровень кортизола на 1-е сутки после операции был статистически значимо выше у пациентов без ремиссии.

С целью оценки диагностической значимости уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики ремиссии был проведен ROC-анализ. ROC-кривая представлена на Рисунке 3.

**Рисунок 3** – ROC-анализ уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики отсутствия ремиссии

AUC = 0,992 (95%-й ДИ 0,929–1,000), что говорит о высокой диагностической эффективности уровня кортизола. Согласно индексу Юдена, была выбрана отрезная точка, равная 566 нмоль/л. Матрица классификации для данной отрезной точки представлена в Таблице 15.

Таблица 15 – Матрица классификации 35 пациентов с наличием и отсутствием ремиссии по уровню кортизола на 1-е сутки с отрезной точкой 566 нмоль/л

	Ремиссия есть	Ремиссии нет
Кортизол на 1-е сутки < 566 нмоль/л	30	0
Кортизол на 1-е сутки ≥ 566 нмоль/л	1	4

Операционные характеристики отрезной точки: ДЧ = 97% (95%-й ДИ 90–97%); ДС = 100% (95%-й ДИ 46–100%); ПЦПР = 100% (95%-й ДИ 93–100%); ПЦОР = 80% (95%-й ДИ 36–80%);

Таким образом, при уровне кортизола на 1-е сутки более или равном 566 нмоль/л ремиссия будет отсутствовать с вероятностью от 93% до 100%.

Так как рецидив произошел через разный промежуток времени, для анализа наличия ассоциаций различных до и послеоперационных параметров с развитием рецидива использовали одномерный регрессионный анализ Кокса. Результаты анализа представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Одномерный регрессионный анализ Кокса (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)

Статистически значимых предикторов развития рецидива не обнаружено.

3.2.1. Обсуждение полученных результатов

Среди 110 пациентов оперативное лечение рекомендовано всем пациентам с манифестной формой ($n = 28$) и 23 пациентам с ФАПК. Из исследования были исключены пациенты с рецидивом гиперкортицизма после ОА ($n = 1$), 3 пациентам запланировано оперативное вмешательство в ближайшее время, 3 пациентам проведено оперативное вмешательство в других лечебных учреждениях.

В условиях хирургического отделения ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» проведено 44 ОА. Среди прооперированных пациентов у 21 диагностирована манифестная форма СК, соответственно, у 23 пациентов имела ФАПК с коморбидными состояниями. Ремиссия наблюдалась у 40/44 (91%; 95%-й ДИ 78–97%) пациентов, что в не в полной мере соответствует данным зарубежных авторов. Так, Debillion и соавт. сообщают о достижении ремиссии у всех пациентов ($n = 15$), что свидетельствовало о высокой эффективности односторонней операции, однако, противоречивые результаты предоставила группа авторов Wang и соавт. [47], [218]. В ходе ретроспективного анализа результатов ОА, выполненной 124 пациентам с МДГН, отсутствие ремиссии было зафиксировано у 29,2%. Представленные нами данные в большей степени соответствуют результатам работы Sheikh-Ahmad и соавт. [185]

При оценке результатов ОА, оценена динамика гормональных показателей и получена стойкая нормализация показателей СКМ (до - 840 [468; 1892], после - 267 [204; 432], $p < 0,01$) и утреннего АКТГ (до - 1 [1; 2,1], после - 8,3 [2,6; 15,0], $p < 0,01$), при этом, несмотря на значительное снижение уровня кортизола в ходе ПДТ1 (до - 466 [173; 652], после - 86 [61; 149], $p < 0,01$) достижение референсного порогового значения (< 50 нмоль/л) не достигнуто. Однако, специфичность ПДТ1 для промежуточных значений 50–140 нмоль/л не превышает 80%, более того пациенты с избыточной массой тела/ожирением, депрессивными состояниями и др., которые часто наблюдаются у пациентов с СК, могут давать физиологическое повышение кортизола при данной пробе.

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. Как и в случае с ремиссией СК, были получены отличные результаты в сравнении с данными зарубежных исследований хотя, необходимо отметить, что представленные в двух работах Debillion и соавт. и Wang и соавт. конечные результаты в достаточной мере дискордантны. В ходе пятилетнего наблюдения пациентов с МДГН после проведенной ОА, Debillion и соавт. сообщают о стойкой ремиссии заболевания у 100% пациентов в течение всего периода наблюдения. В свою очередь, Wang и соавт. демонстрируют, что в течение 24-месячного наблюдения у 64/116 пациентов (55,2%) был зафикс-

сирован биохимический рецидив, что потребовало выполнения контралатеральной адреналэктомии 43 из них. При анализе других зарубежных работ нами полученные данные в целом сопоставимы с их результатами [47], [161], [223], [110], [86].

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. Однако в результате сравнительного анализа было показано, что у пациентов с отсутствием ремиссии уровень СКМ до операции был значимо выше (1892; 2134; 3124; 5063), чем в группе пациентов с достигнутой ремиссией (900 [468; 1779]), однако, с учетом введения поправки Бонферрони, можно говорить о наличии влияния более высокого уровня СКМ на результат хирургического лечения лишь на уровне тенденции, $p = 0,011$. 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 контралатерального надпочечника. Недостатком работы в данном случае явилась невозможность проведения генетического обследования, в частности исследование мутации *ARMC5*, ассоциированной с более тяжелым и прогрессирующим течением МДГН.

Далее, нами проведен сравнительный анализ двух когорт пациентов (ФАПК и манифестный СК), по данным которого не выявлено статистически значимых различий между группами, ввиду чего можно заключить, что тяжесть течения СК не влияет на исход оперативного вмешательства.

Одним из критериев достижения ремиссии в послеоперационном периоде являлось развитие НН, носившей транзиторный характер. Несмотря на двустороннее поражение и наличие резидуальной узловой ткани контралатерального надпочечника, нами была установлена неожиданно высокая частота НН – у 26/44 пациентов (59%, 95%-й ДИ 43–74%), среди которых у 1 пациента наблюдалась латентная послеоперационная НН. В предыдущих исследованиях доля пациентов с транзиторной НН не превышала 40%. Также, нами впервые проведен поиск потенциальных факторов, оказывающих влияние на развитие и длительность НН в послеоперационном периоде. 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.

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. По данным работы Osswald и соавт. из 26 человек у 3 зафиксированы летальные исходы в послеоперационном периоде, которые авторы связывают с асимптоматическим течением НН. Данные больные были подвержены более высокому риску неблагоприятных событий, в особенности те, кто имел более выраженные биохимические и гормональные изменения [161].

Все пациенты после ОА рассматривались как пациенты, подверженные высокому риску развития послеоперационной НН, однако, 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. Учитывая данные исследования Hurtado и соавт., свидетельствующие о возможности использования порогового уровня кортизола в 8:00 ≥ 10 мкг/дл (≥ 276 нмоль/л) в качестве критерия восстановления ГГНО у пациентов, получавших терапию ГКС после ОА, нами была определена диагностическая значимость данного показателя (уровня кортизола в 8:00) в скрининге послеоперационной НН. Среди 44 пациентов после ОА, у 35 пациентов определен уровень утреннего кортизола крови. Остальные 9 пациентов были исключены из исследования в связи с развитием клинических признаков НН, купированной в/в введением 100 мг гидрокортизона, с последующим переходом на пероральную заместительную терапию. Необходимо отметить, что в настоящей работе впервые определена оптимальная точка разделения для утреннего уровня кортизола крови в скрининге послеоперационной НН. По данным ROC-анализа, для диагностики НН оптимальным пороговым значением для данного показателя с чувствительностью – 100% [83–100%], специфичностью – 78% [62–78%], прогностической ценностью положительного результата – 81% [67–91%] и прогностической ценностью отрицательного результата – 100% [79–100%] явилась отрезная точка в 325 нмоль/л. $AUC = 0,961$ (95%-й ДИ 0,894–1,000), что говорит о высокой диагностической эффективности уровня кортизола. Таким образом, 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 [57].

Генез надпочечниковой недостаточности в послеоперационном периоде может быть, как первичным, так и вторичным, так и смешанным, более того его определение весьма затруднительно. Соответственно, классические методы диагностики НН могут быть неприменимы для пациентов после ОА, что было продемонстрировано в некоторых опубликованных исследованиях [47], [231].

Впервые нами выполнена оценка количественного показателя удаленной ткани к объему остаточной узловой ткани в качестве предиктора эффективности односторонней операции. Полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии статистически значимого влияния процента удаленной узловой ткани или объема остаточной ткани, на исход оперативного вмешательства. Однако, было отмечено, что уровень кортизола, определенного на 1-е сутки после ОА, был статистически значимо выше у пациентов без ремиссии ($p = 0,002$). С целью оценки диагностической значимости уровня кортизола на 1-е сутки для диагностики ремиссии был проведен ROC-анализ. При уровне кортизола более или равном 566 нмоль/л отсутствие ремиссии будет с вероятностью от 93% до 100%.

Отдаленные клинические исходы сопутствующих заболеваний оценивались у 40 пациентов с подтвержденной ремиссией заболевания. 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 пациента (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 снизился с 30,8 [27,5; 34,4] до 28,5 [23,9; 32,2] ($p < 0,01$).

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.

3.2.2. Клинический случай 2

Пациент К., 48 лет. Анамнез заболевания с 2000 года, когда пациента начали беспокоить эпизоды повышения артериального давления с максимальным повышением цифр до 170/110 мм рт. ст., набор веса (+8 кг), мышечную слабость. В ходе обследования (УЗИ) были обнаружены двусторонние образования надпочечников. При проведении КТ надпочечников выявлены объемные образования в обоих надпочечниках, с максимальным размером 54 мм в правом надпочечнике и 32 мм в левом. По результатам обследования получены данные в пользу АКТГ-независимого гиперкортицизма: отсутствие подавления кортизола в ходе ПТД1 – 158 нмоль/л (N менее 50 нмоль/л), высокий уровень свободного кортизола суточной мочи – 1200 нмоль/сут, АКТГ менее 5 пг/мл. В 2001 году пациенту была проведена операция левосторонняя адреналэктомия. Гистологическое заключение не предоставлено, со слов пациента – аденома надпочечника. В послеоперационном периоде проводилась заместительная терапия Преднизолоном в течение 3 месяцев. Пациент субъективно отмечал улучшение состояния, наблюдалась стойкая нормализация АД. Длительное время не обследовался, к врачу не обращался.

С 2019 года появились характерные изменения внешности: перераспределение подкожно-жировой клетчатки, матронизм, мышечная слабость, боль в суставах. Пациент отмечает снижение роста на 4 см, диагностирован компрессионный перелом тела Th11. В течение последних трех наблюдается повышение АД, в связи с чем постоянно принимает 3-компонентную антигипертензивную терапию с эффектом. По данным гормонального обследования: АКТГ утром < 5 пг/мл (7,2–63,3 пг/мл), кортизол в суточной моче 1155 нмоль/сут (100–379 нмоль/сут), По данным МСКТ надпочечников: правый надпочечник значительно увеличен в размерах за счет множественных округлых образований плотностью до 5 НУ, максимальным диаметром до 41 мм, общими размерами до 99×62×40 мм, с кальцинатом в структуре, с контрастированием, характерным для аденом.

10.02.2020 выполнена лапароскопическая правосторонняя адреналэктомия (тотальная адреналэктомия).

Макроскопическое описание доставленного для патоморфологического исследования материала удаленного надпочечника: фрагменты жировой клетчатки с наличием плотной охряно-желтой ткани, плотные желтые участки 3,0–5,0 см (представлено на рисунке). Микроскопическое описание: при гистологическом исследовании обнаружена ткань надпочечника с признаками гиперплазии узловой перестройки коркового слоя в виде гиперплазии преимущественно светлых клеток с очаговой лимфоцитарной инфильтрацией. Заключение: морфологическая картина характерна для макронодулярной гиперплазии надпочечника.



Рисунок 4 – Удаленный надпочечник при МДГН

По данным ИГХ исследования: положительная экспрессия $\beta 1$ -AR (+++), $\beta 2$ -AR (++), $\alpha 2A$ -AR(+), ACTH (+), LH/hCGR (+), отсутствие экспрессии вазопрессиновых, серотониновых рецепторов и GPR.

В послеоперационном периоде инициирована заместительная терапия Гидрокортизоном в суточной дозе 40 мг/сут, с постепенной титрацией до 25 мг/сут и Флудрокортизоном 50 мкг/сут. По месту жительства инициирована антиостеопоротическая терапия (бисфосфонаты, препараты кальция, нативные препараты витамина Д). В ходе динамического обследования через 6 месяцев клинические признаки и симптомы СК полностью отсутствуют. Признаков надпочечниковой недостаточности нет. По данным электролитного состава крови: Калий 4,5 ммоль/л, Натрий 138 ммоль/л, Хлор 105 ммоль/л. Регулярно принимает: Амлодипин 5 мг, Индапамин 2,5 мг, Периндоприл 8 мг. На фоне получаемых препаратов, АД в пределах целевых значений. По результатам денситометрического исследования через 2 года: минеральная плотность костной ткани в поясничном отделе позвоночника (L1–L4) соответствует возрастной норме: -0,2 SD (по Т-критерию). Минеральная плотность костной ткани в проксимальном отделе левой бедренной кости соответствует возрастной норме: -0,6 SD (по Т-критерию). Однако, с учетом отсутствия медицинской документации ранее проведенных исследований, оценить динамику показателей не представляется возможным.

Резюме

В представленном клиническом случае, в первую очередь, продемонстрирована эффективность односторонней адреналэктомией при МДГН. Несмотря на оптимальный объем хирургического лечения спустя 19 лет пациенту всё же потребовалось повторное оперативное лечение в связи с развитием рецидива, однако, в течение всего периода пациент был здоров, имел высокое качество жизни, не нуждался в постоянной заместительной терапии и, как следствие, был снижен риск смерти от острой надпочечниковой недостаточности.

На данном примере показано, что несмотря на первоначальный маленький объем остаточной узловой ткани, со временем она имеет тенденцию к многократному росту, что приводит к манифестации гиперкортицизма. В связи с этим, пациенты с МДГН требуют пожизненного динамического контроля, однако параметры (гормональные, топоческие или клинические), по которым данную группу пациентов необходимо вести, остаются предметом дискуссии.

При ИГХ-исследовании получены данные о сочетанной экспрессии множественных аберрантных и эутопических рецепторов. Наличие коэкспрессии рецепторов у данного пациента является одним из факторов, ограничивающих общий ответ на монотерапию.

3.3. Результаты иммуногистохимического исследования, как метода выявления гиперэкспрессии эутопических и/или наличия аберрантных 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 (Рисунок 5).

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 (Рисунок 6). 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.



Рисунок 5 – Надпочечник с выраженными гиперпластическими изменениями, характерными для МДГН

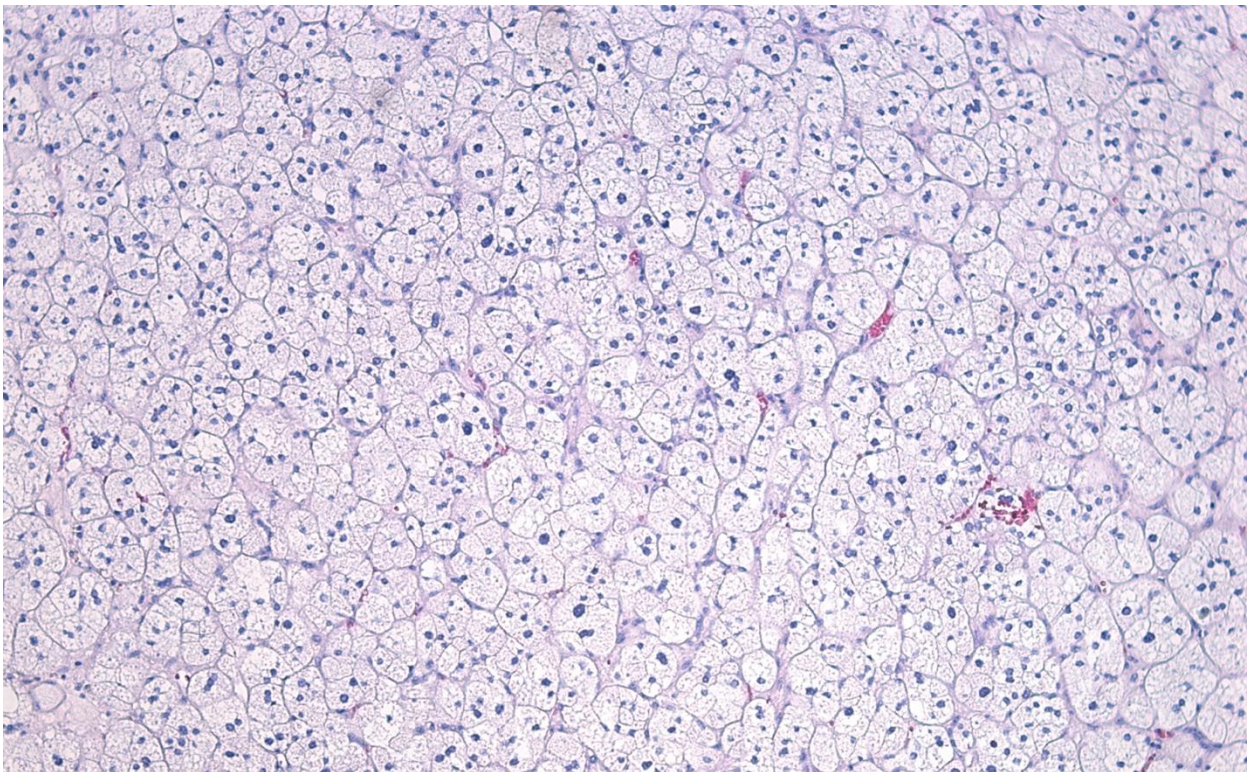


Рисунок 6 – Микропрепарат: ткань МДГН представлена множеством богатых липидов клетками с очаговым ядерным полиморфизмом (спонгиоцитов) ($\times 400$; окраска гематоксилин-эозином)

3.3.1. Внутриадренальная продукция АСТГ

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.

Иммуноокрашивание АКТГ-позитивных клеток в представленных образцах тканей надпочечников пациентов с МДГН носило различный характер.

Изолированные кортикотропин-позитивные клетки выявлены в 13/24 доступных образцов (54,1%); в остальных 11 образцах (46,9%) были расположены в кластерах (очаговая секреция сгруппированных клеточных структур в 10–30 клетках).

Число кластеров в пределах видимых тканей было не столь значительным, как правило варьировало от 1 до 5 (Рисунок 7).

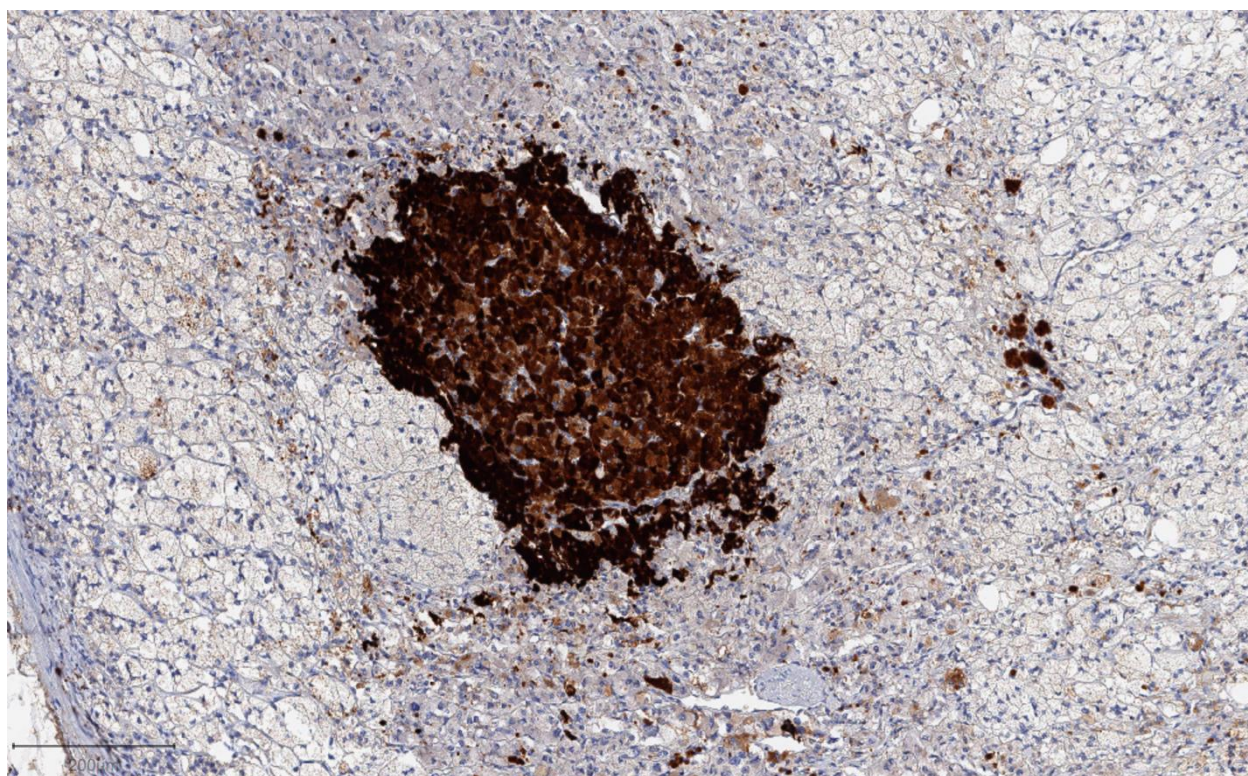


Рисунок 7 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная фокальная экспрессия АКТГ компактными клетками в узловой ткани надпочечника ($\times 400$; ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Иммунопозитивные очаги были представлены преимущественно компактными клетками, в части случаев, имеющих вид скоплений, гнезд, а в большинстве случаев – вид тяжей, пронизывающих тубулярные спонгиозитарные узловые структуры (Рисунки 8, 9).



Рисунок 8 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная очаговая экспрессия АКТГ компактными клетками (тяж) в узловой ткани надпочечника (x 100, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

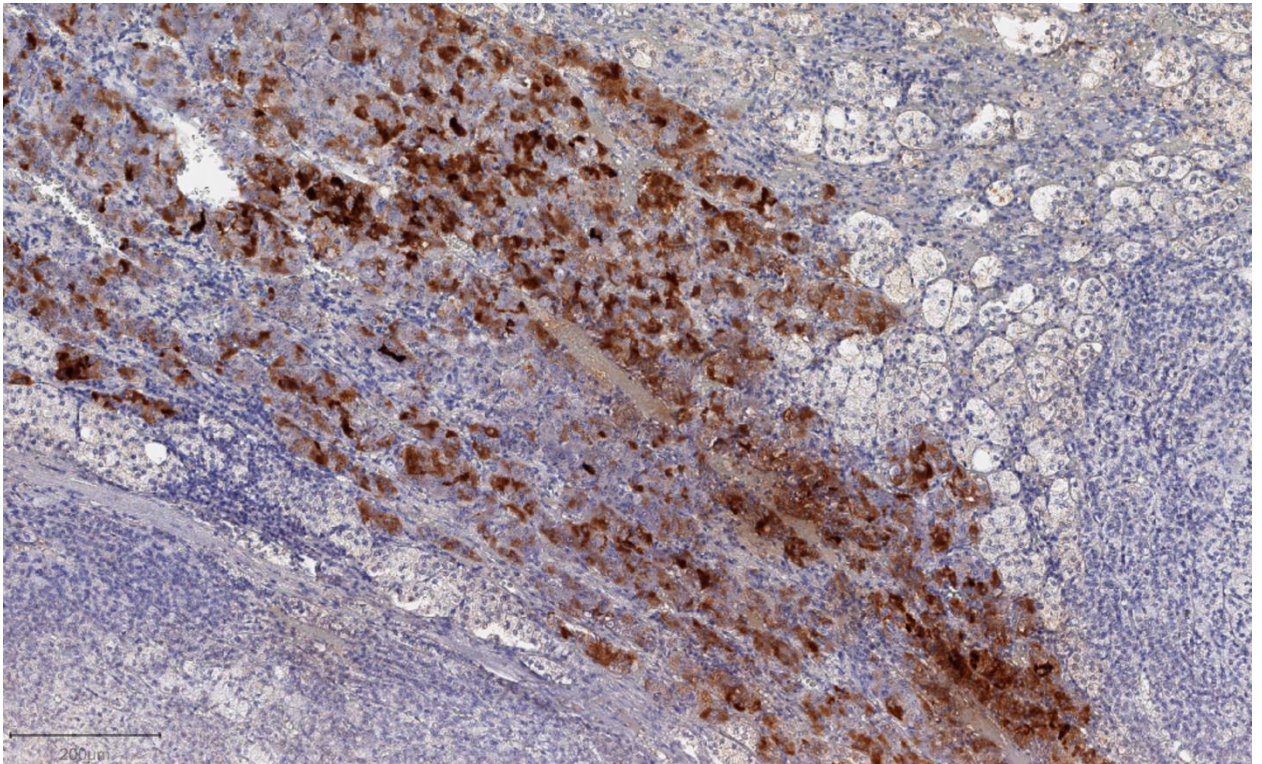


Рисунок 9 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная очаговая экспрессия АКТГ компактными клетками (тяж) в узловой ткани надпочечника (x200, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

В 13 из 24 образцов единичные компактные клетки с иммунной меткой находились в скоплении лимфоцитов (Рисунок 10).

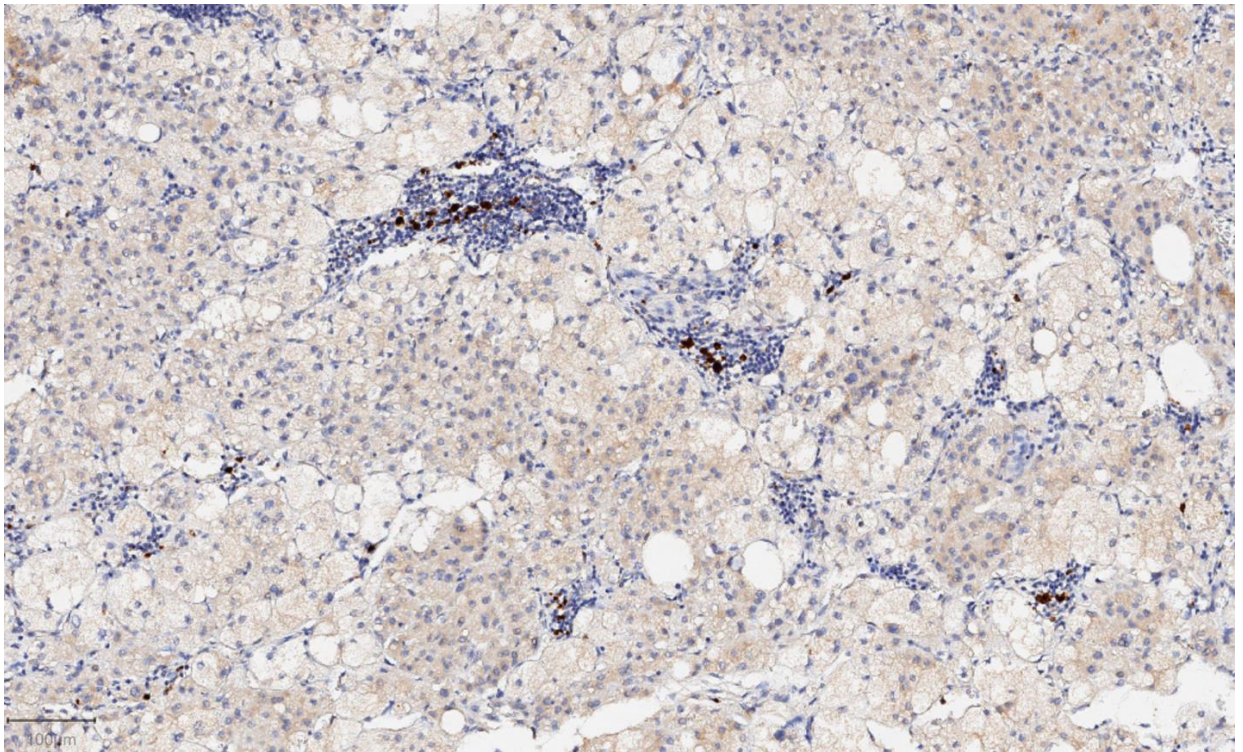


Рисунок 10 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Цитоплазматическая экспрессия АКТГ единичными изолированными компактными клетками в узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

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 11).

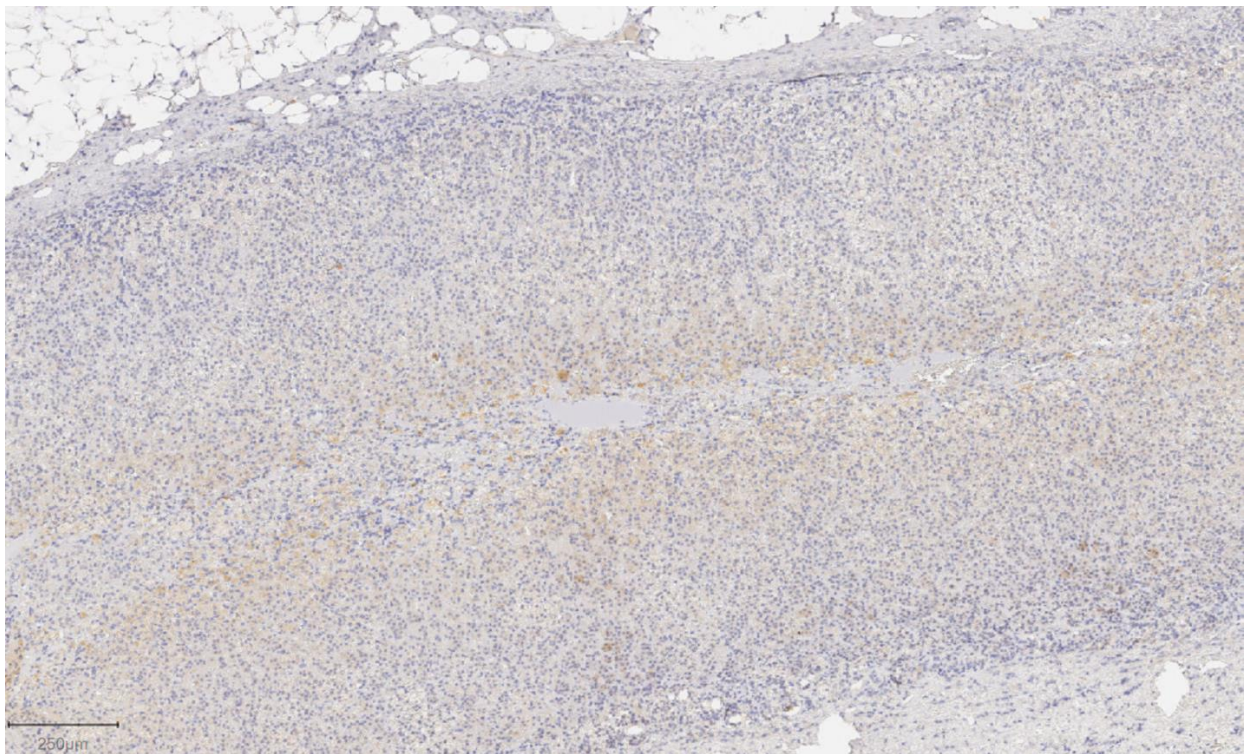


Рисунок 11 – Контрольная ткань. Отсутствие реакции с антителами против АКТГ ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

А. Рецепторы глюкозозависимого инсулинотропного пептида (GIPR)

По результатам проведенного исследования aberrантная 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 (Рисунок 12).

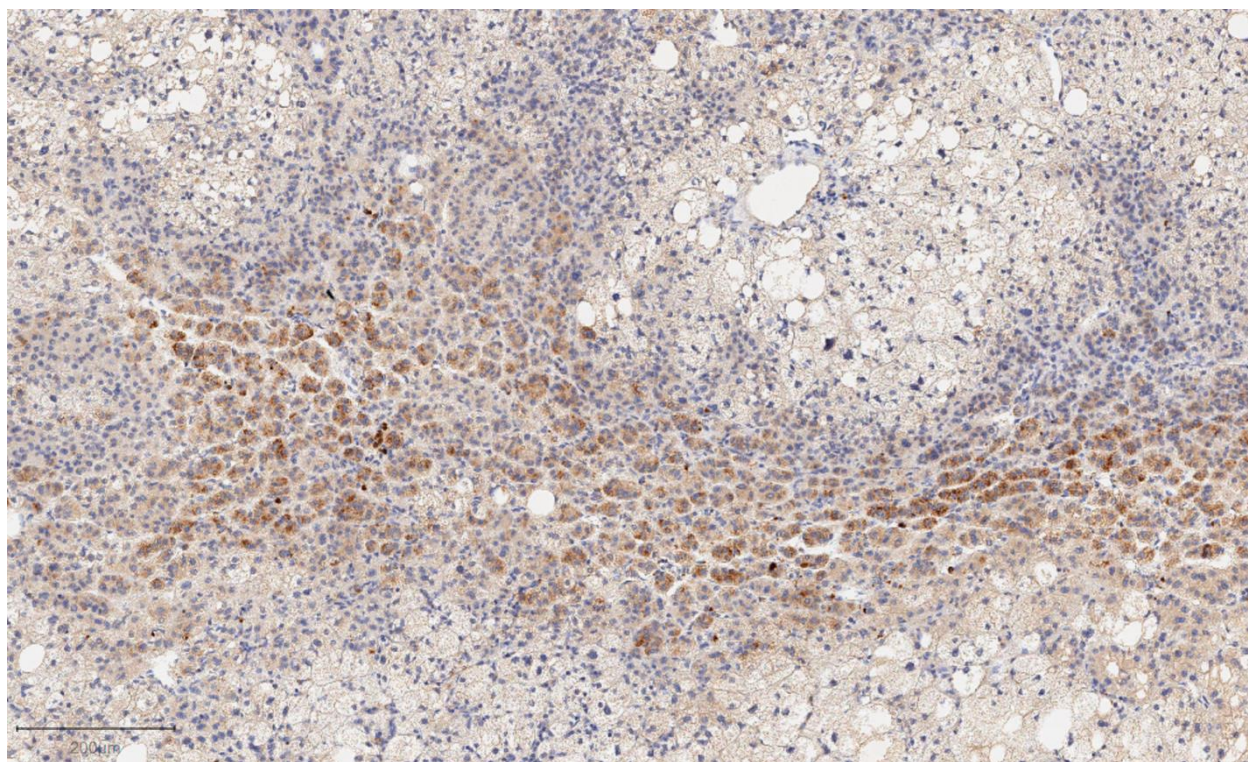


Рисунок 12 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Слабая цитоплазматическая очаговая экспрессия GIPR компактными клетками в узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Полуколичественная оценка иммунной реакции компактных клеток узлов показало слабое иммуноокрашивание во всех представленных образцах.

При ИГХ-исследовании узловых клеток 1/19 образцов выявлена выраженная очаговая положительная экспрессия GIPR. Визуализировались не только иммунореактивные компактные клетки, но и иммунная реакция в цитоплазме кластеров спонгиозитов (Рисунок 13).

При ИГХ-исследовании в группе контроля не выявлено положительной реакции с анти-GIP-антителом (Рисунок 14).

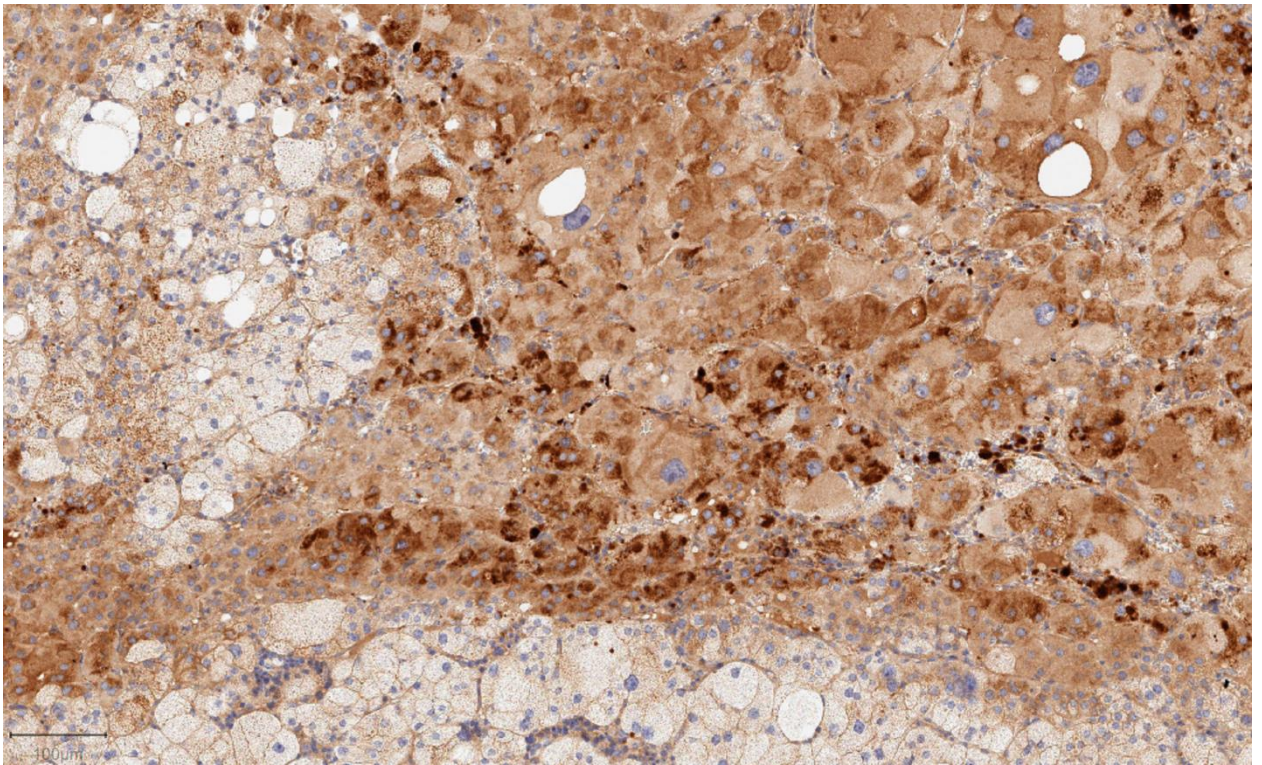


Рисунок 13 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная изолированная экспрессия GIPR компактными клетками и умеренная цитоплазматическая реакция спонгиоцитов в узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

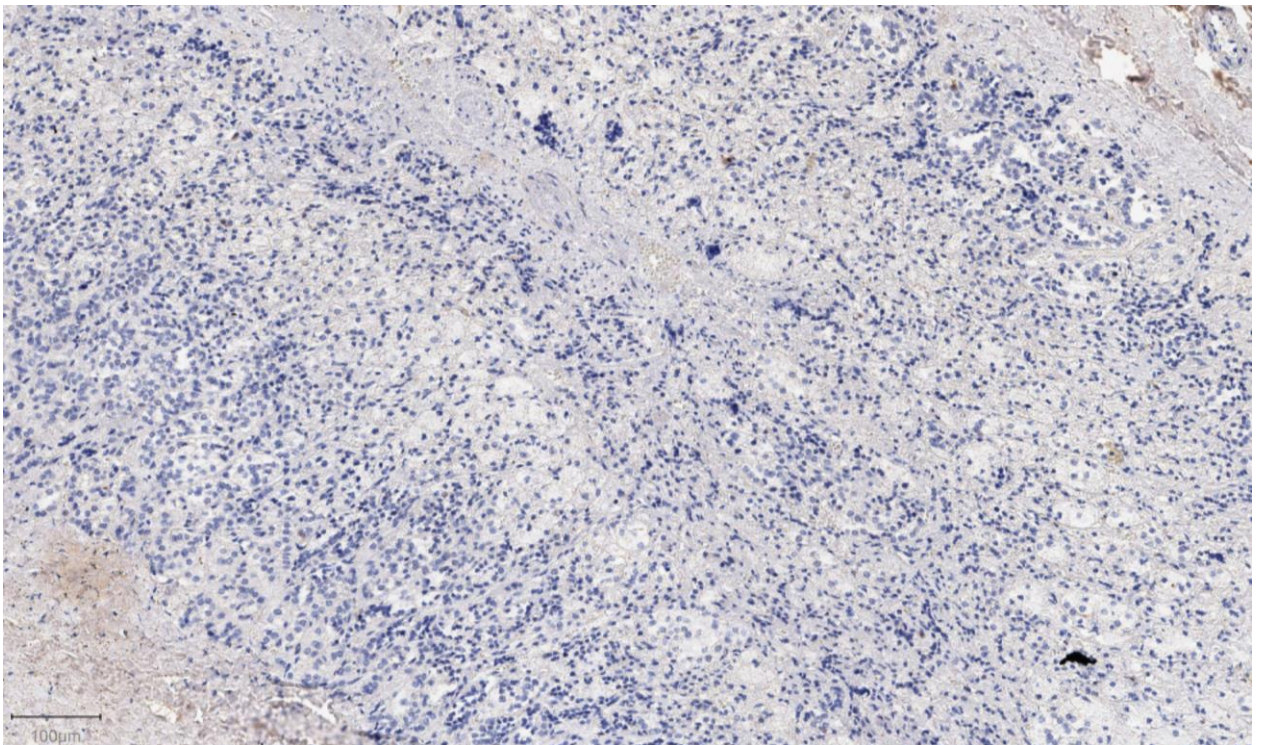


Рисунок 14 – Контрольная ткань. Отсутствие реакции с антителами против GIPR ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Б. $\alpha 2A$ -адренорецепторы

Кластеры $\alpha 2A$ -AR-иммунореактивных больших спонгиозитов были выявлены в узлах МДГН в 22/28 образцов (78,5%). Иммунная метка к $\alpha 2A$ -AR присутствовала в двух субпопуляциях клеток, как в больших спонгиозитах, так и в маленьких компактных клетках. В большинстве образцов иммунореактивными были именно кластеры компактных клеток (Рисунок 15).

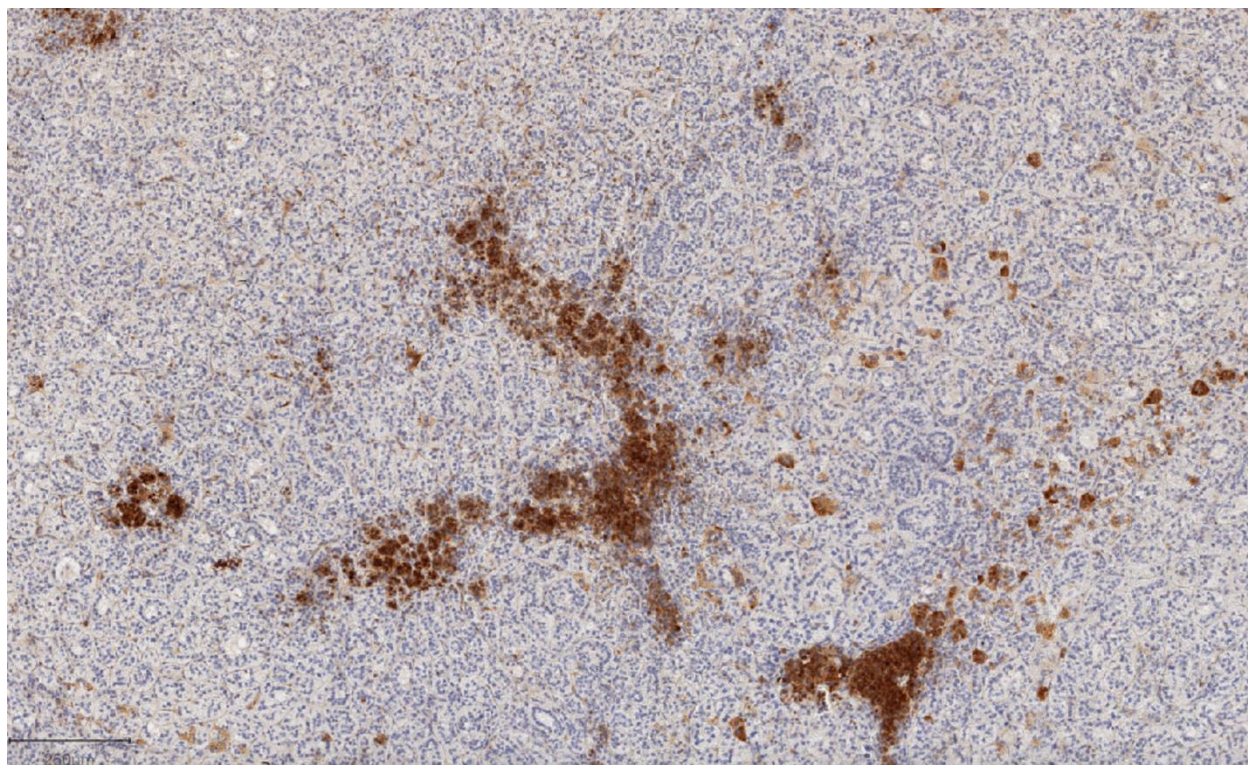


Рисунок 15 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная цитоплазматическая очаговая экспрессия $\alpha 2A$ -AR компактными клетками в узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Иммунная метка присутствовала непосредственно в цитоплазме и на периферии плазматической мембраны обеих субпопуляций клеток узлов надпочечников, в ряде случаев помимо этого наблюдалась и ядерная реакция (Рисунок 16). 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 слабоположительная (+). В ткани узлов ядерная реакция с анти- $\alpha 2A$ -AR-антителом зафиксирована в 12/22 образцов (54,5%), и визуализировалась как в ядрах компактных клеток, так и больших спонгиозитов (Рисунок 17).

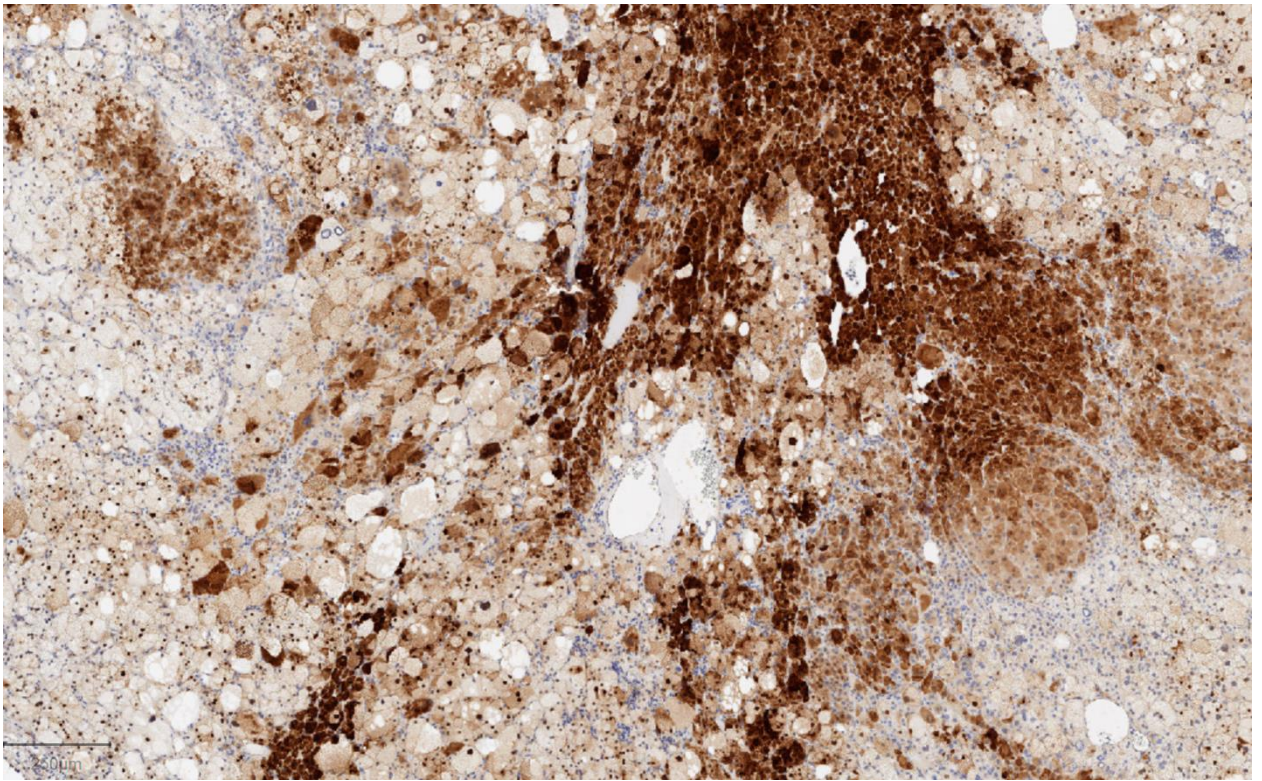


Рисунок 16 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная цитоплазматическая очаговая экспрессия $\alpha 2A$ -AR компактными клетками и спонгиозитами в узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

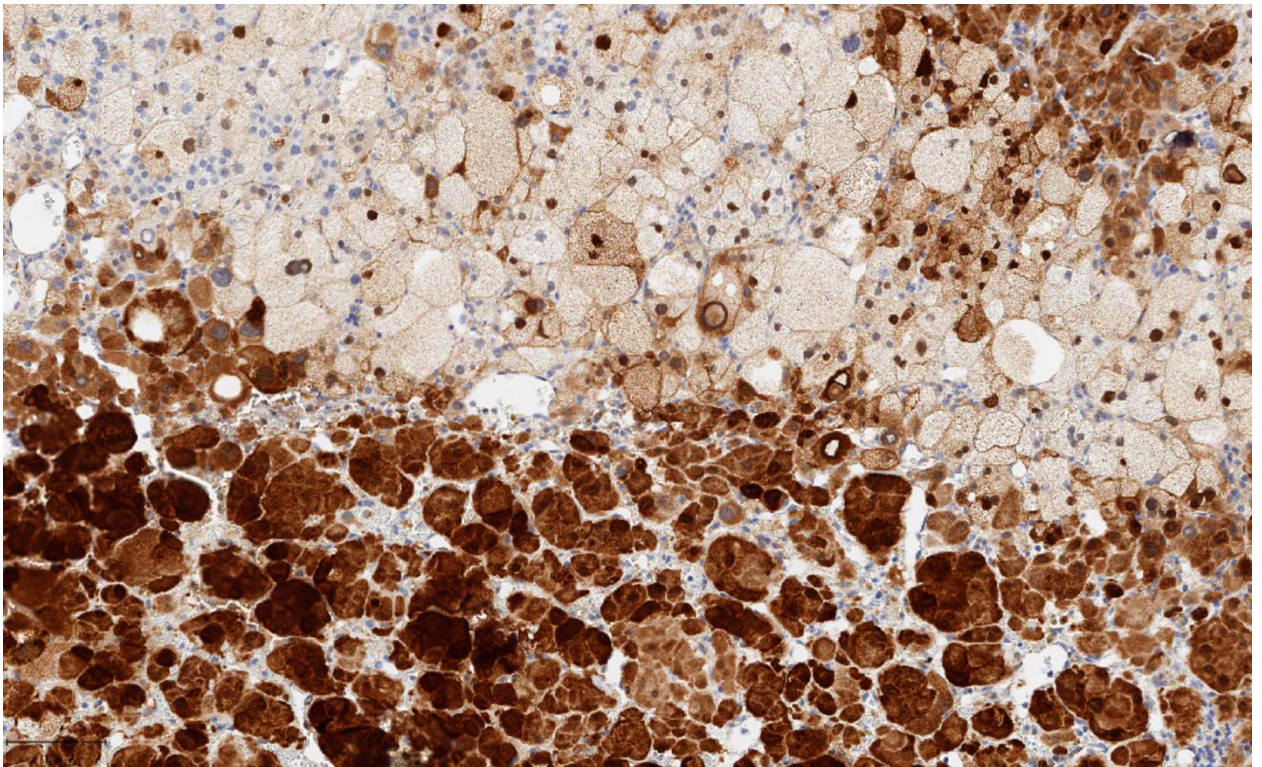


Рисунок 17 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Выраженная цитоплазматическая и ядерная экспрессия $\alpha 2A$ -AR спонгиозитами в узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

При анализе контрольной группы в 6 образцах получена положительная слабая фокальная экспрессия $\alpha 2A$ -AR в цитоплазме и ядрах спонгиозитов пучковой зоны коры надпочечников (Рисунки 18, 19).

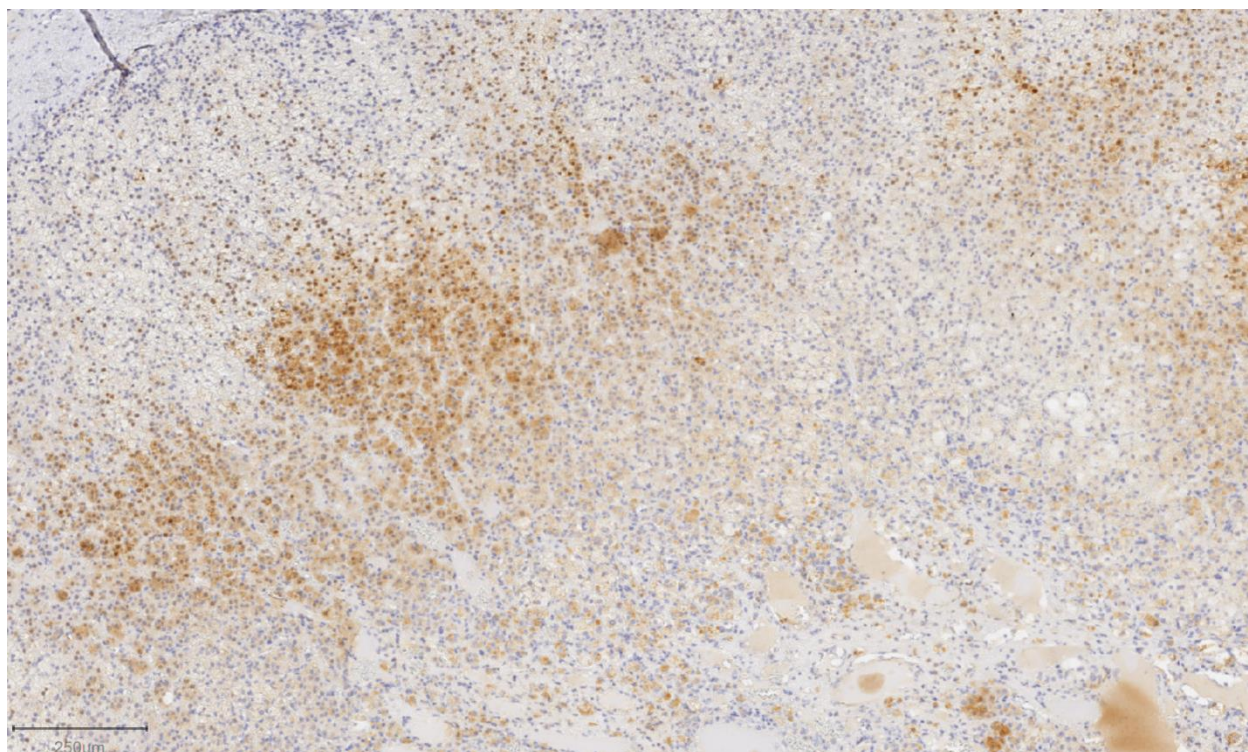


Рисунок 18 – Контрольная ткань. Реакция с антителами против $\alpha 2A$ -AR. Слабоположительная цитоплазматическая и ядерная экспрессия $\alpha 2A$ -AR в кластере спонгиозитов ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

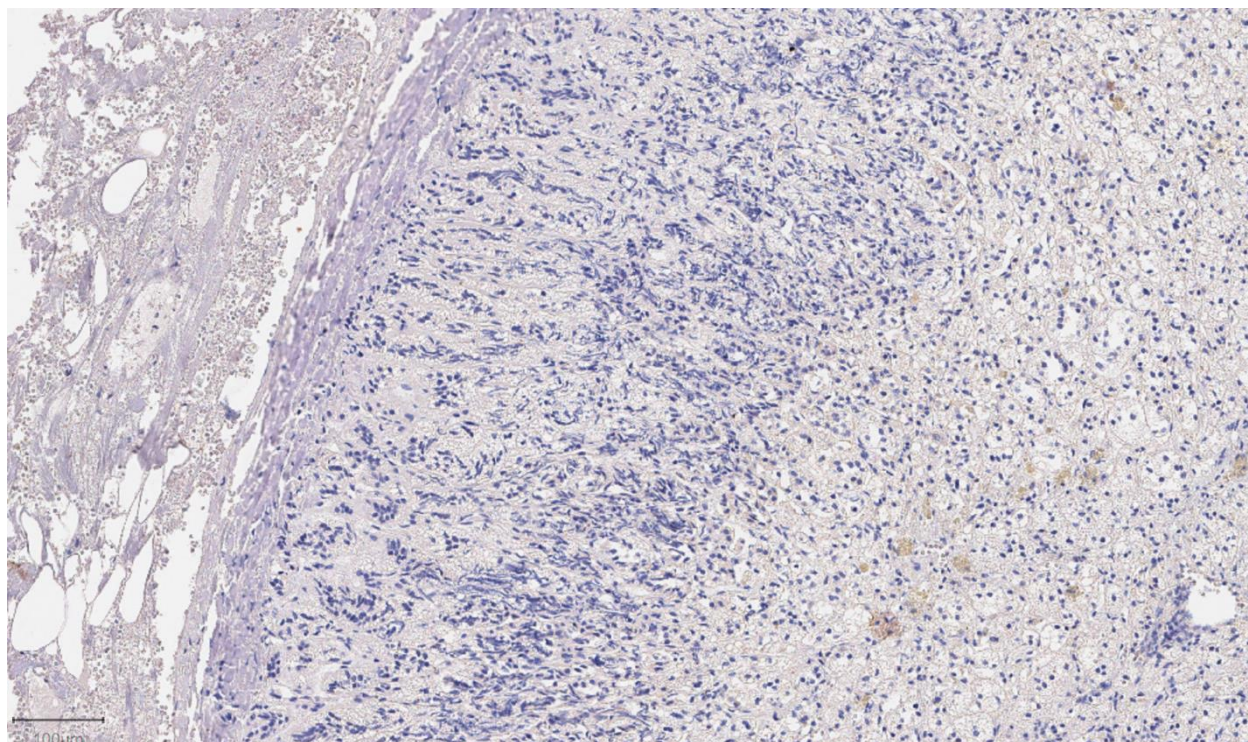


Рисунок 19 – Контрольная ткань. Отрицательная реакция с анти- $\alpha 2A$ -AR -антителом ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

В. $\beta 1$ -адренорецепторы

В ходе ИГХ-исследования тканей МДГН с анти- $\beta 1$ -AR-антителами отмечалась позитивная экспрессия преимущественно в цитоплазме спонгиозитов, реже в мелких клетках.

Сочетанное иммуноокрашивание спонгиозитов и компактных клеток (Рисунки 20, 21) 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.

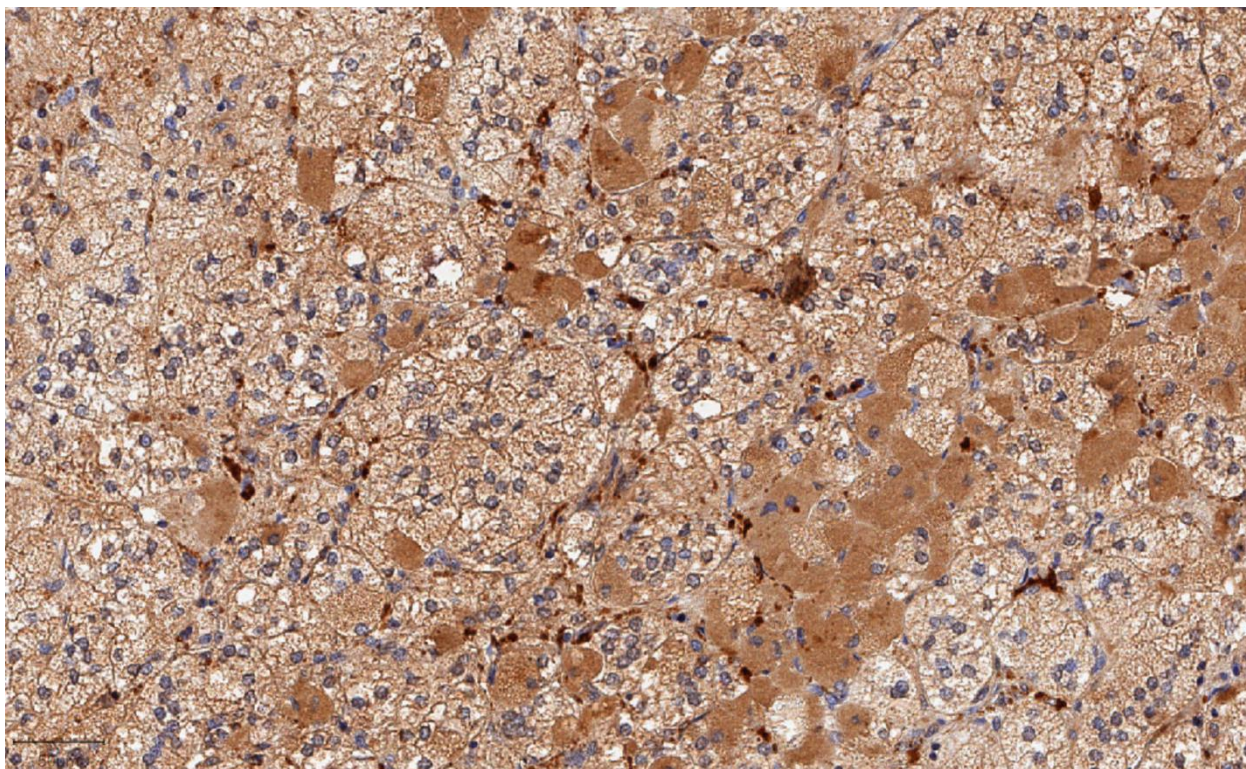


Рисунок 20 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Экспрессия $\beta 1$ -AR в узловой ткани надпочечника: выраженная цитоплазматическая экспрессия компактными клетками, умеренная цитоплазматическая реакция в спонгиозитах ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

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.

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 22).

Нами была также выявлена положительная реакция в хромаффинной ткани неизмененного надпочечника.

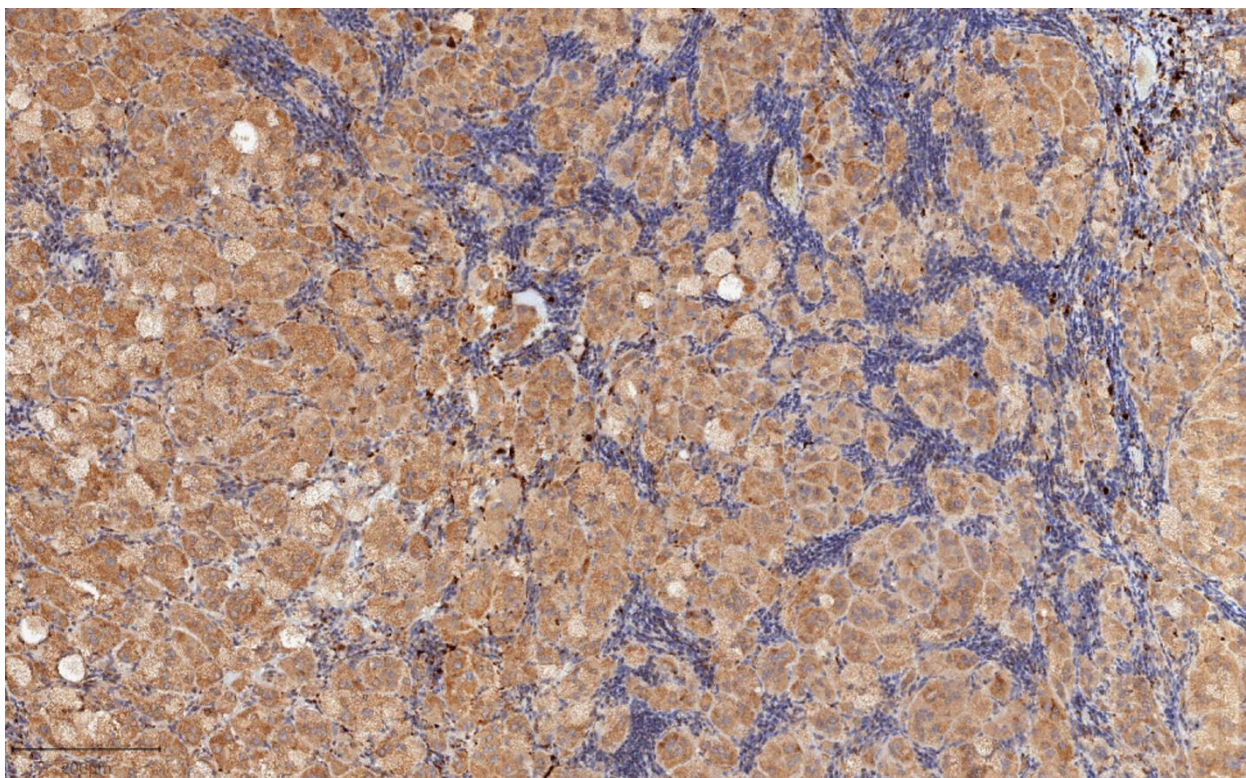


Рисунок 21 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Реакция с антителами против $\beta 1$ -AR: умеренная очаговая цитоплазматическая реакция в спонгиозитах, выраженная цитоплазматическая реакция в единичных компактных клетках, окруженных лимфоидными элементами ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера).

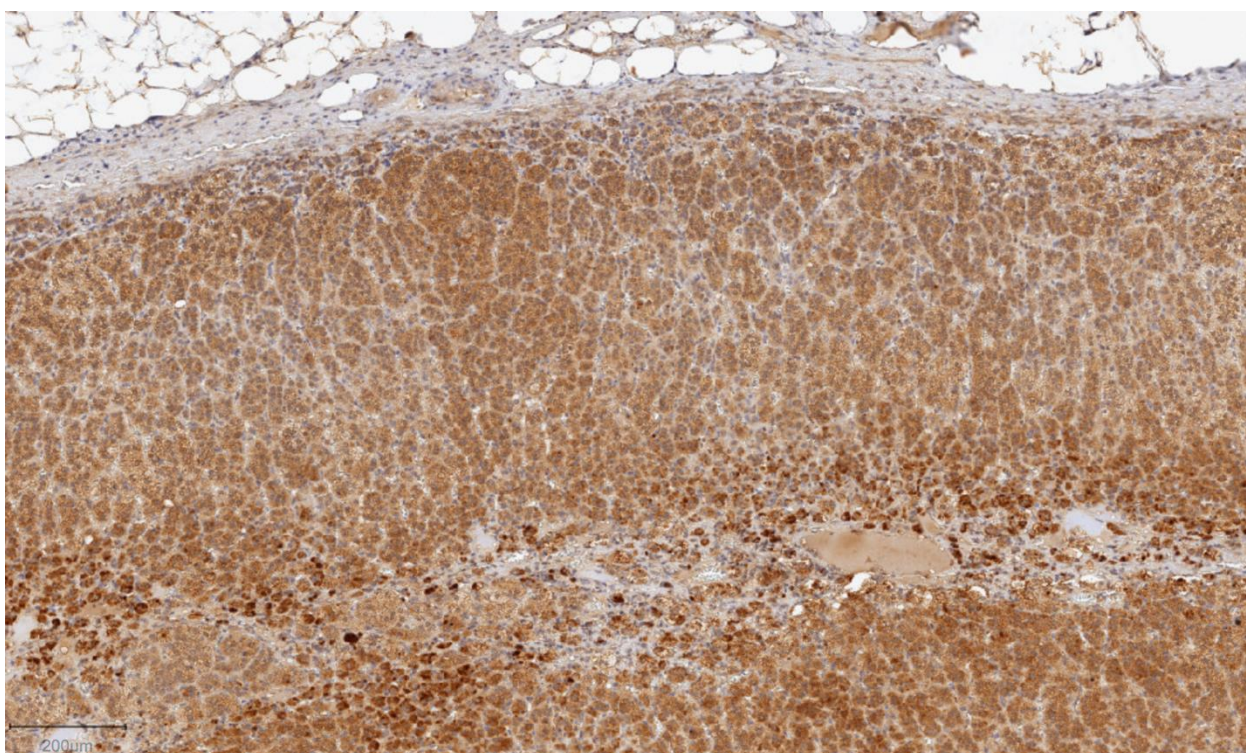


Рисунок 22 – Контрольная ткань. Реакция с антителами против $\beta 1$ -AR. Умеренная диффузная цитоплазматическая экспрессия $\beta 1$ -AR адренокортикальными клетками, выраженная реакция изолированных клеток хромаффинной ткани ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Г. $\beta 2$ -адренорецепторы

Наибольшую вариабельность в полученных результатах ИГХ показала экспрессия $\beta 2$ -AR. Полное отсутствие экспрессии данного рецептора не выявлено ни в одном образце, однако в 1 образце реакция расценена как пограничная слабоположительная/отрицательная с учетом крайне слабой иммунной реакции, наблюдаемой лишь в нескольких клетках (2 кластера спонгиозитов на весь образец) (Рисунок 23).

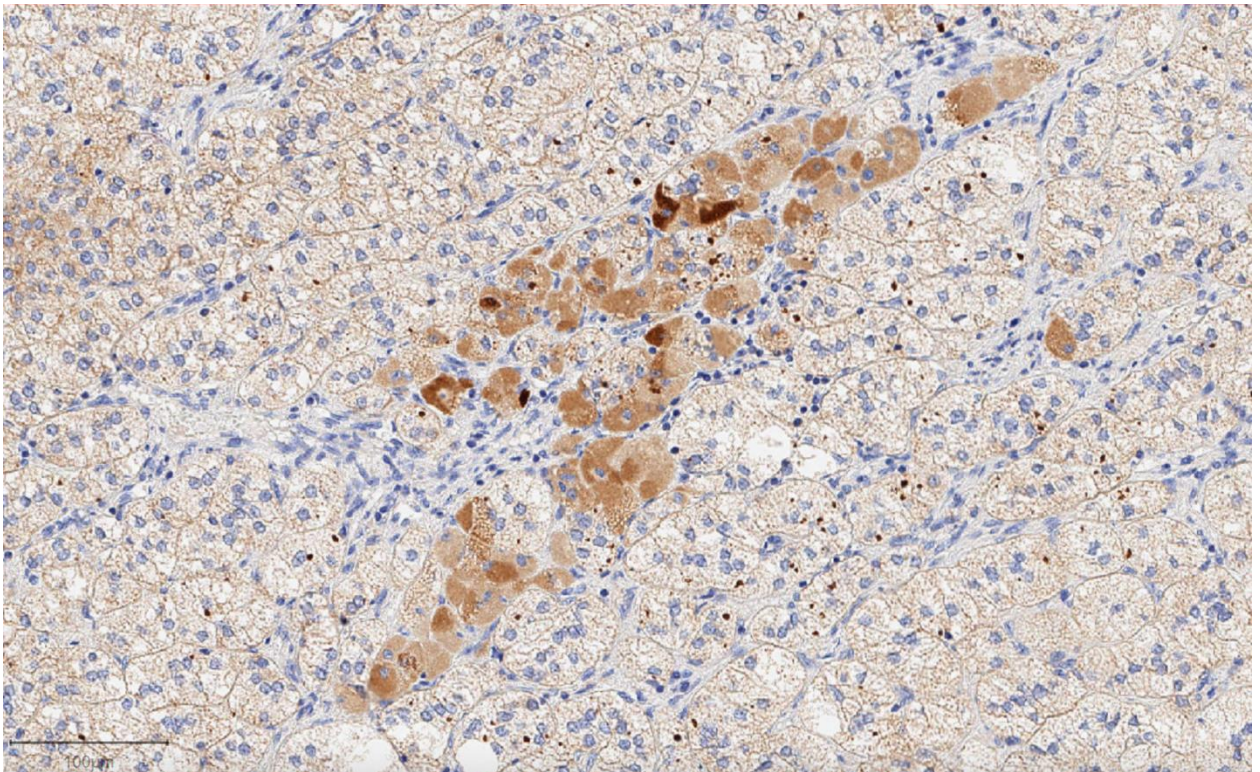


Рисунок 23 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Экспрессия $\beta 2$ AR в узловой ткани надпочечника: слабоположительная цитоплазматическая экспрессия в кластере спонгиозитов ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Степень экспрессии оценивалась полуколичественным методом, так выявлена умеренная фокальная (++) цитоплазматическая экспрессия $\beta 2$ AR в клетках узлов МДГН в 15 случаев (53,5%), выраженная диффузная цитоплазматическая реакция (+++) в - 9/28 (32,1%) (Рисунок 24).

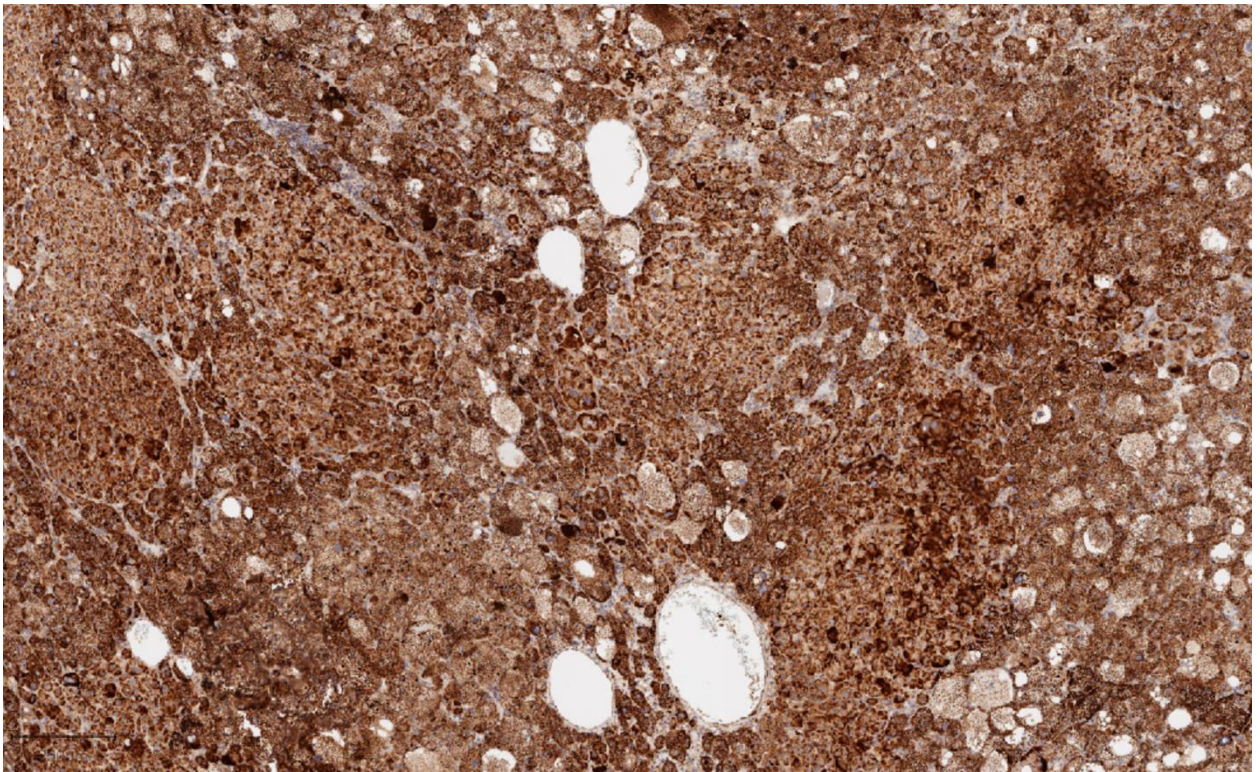


Рисунок 24 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Интенсивная диффузная цитоплазматическая экспрессия $\beta 2AR$ в узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера).

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 25).

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 26).

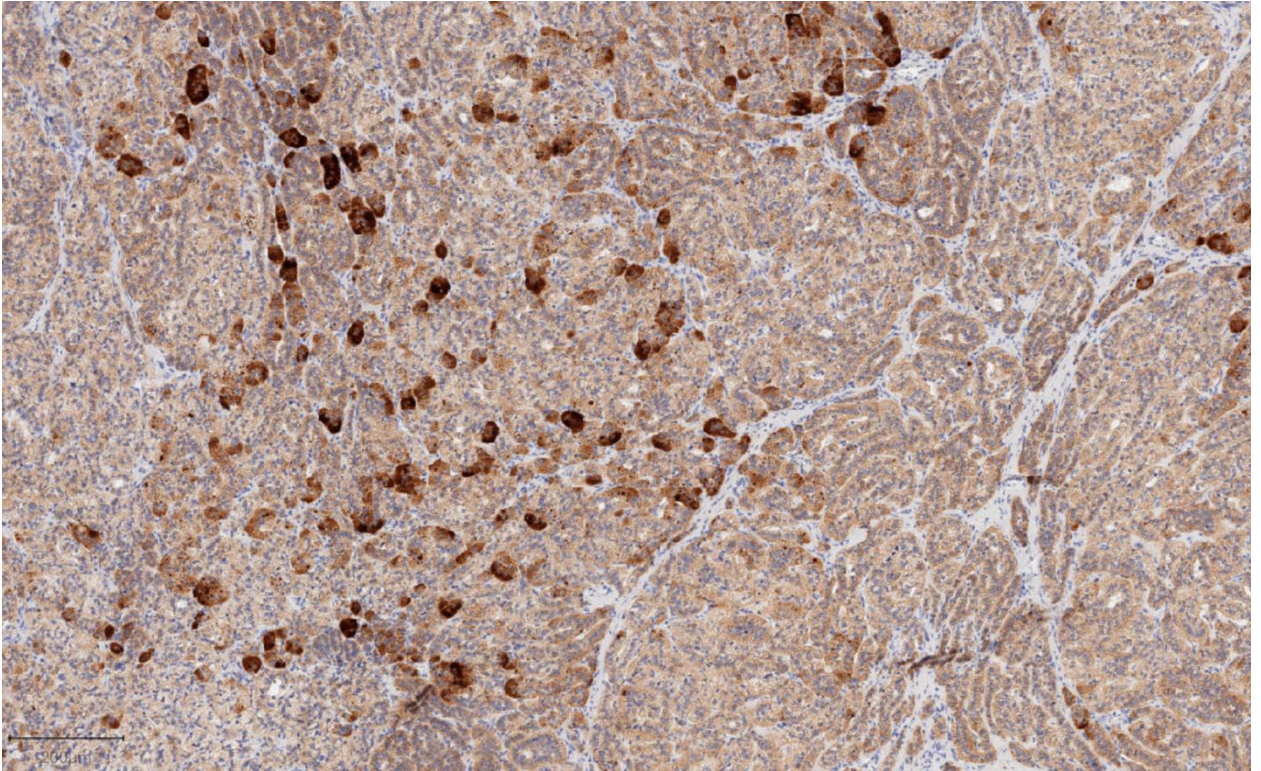


Рисунок 25 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Интенсивная цитоплазматическая экспрессия $\beta 2$ -AR единичными спонгиозитами в узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

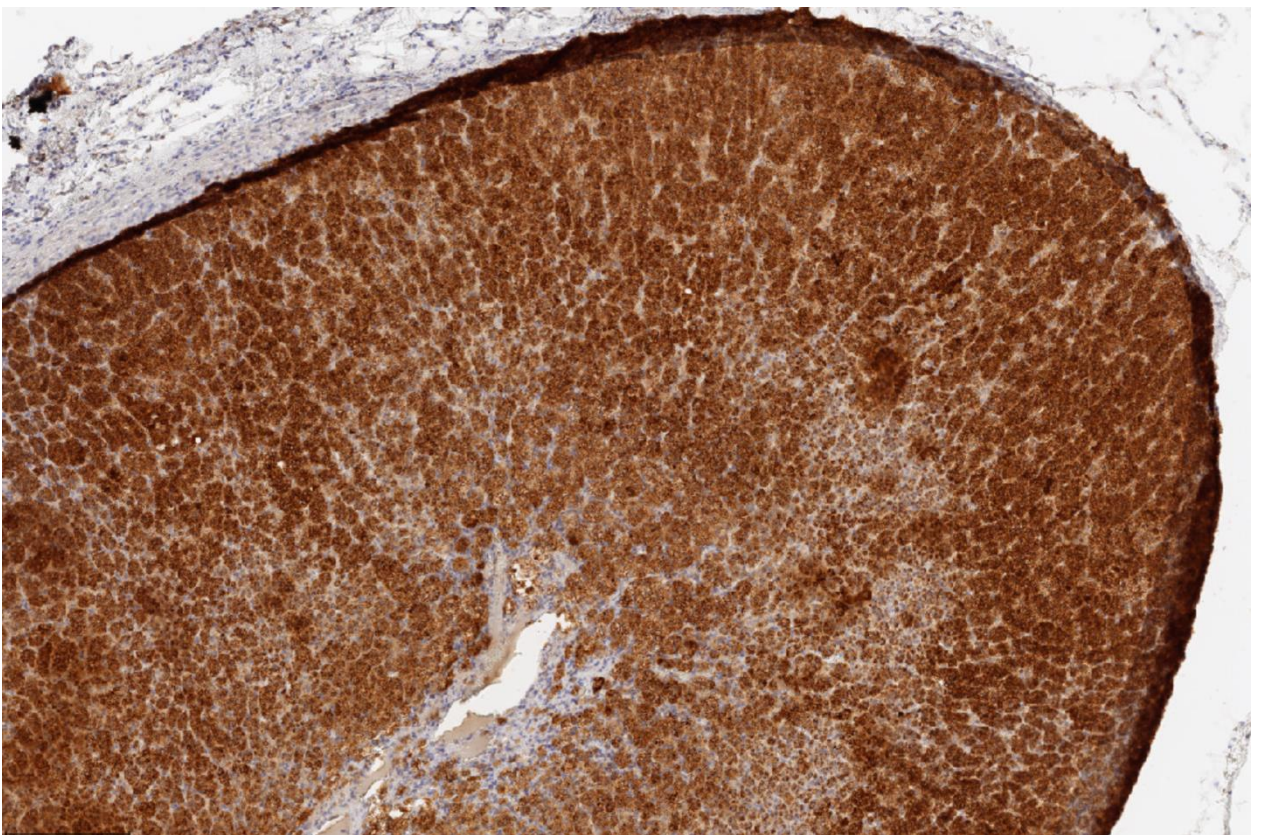


Рисунок 26 – Контрольная ткань. Реакция с анти- $\beta 2$ -AR-антителом. Выраженная диффузная цитоплазматическая экспрессия адренокортикальными клетками ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Д. Рецепторы серотонина 7-го типа

При ИГХ-исследовании тканей МДГН с анти-5-НТ7 рецепторными антителами выявлена положительная реакция в 57,1% случаев (16/28).

В более половины случаев (9/16) отмечалось слабоинтенсивное мечение в небольших компактных клетках, находящихся среди лимфоидных клеток.

При полуколичественной оценке экспрессии 5-НТ7R в 14 образцах отмечалась слабая экспрессия данных рецепторов (+), умеренная экспрессии (++) в 2 образцах соответственно.

В двух образцах с умеренной экспрессией данного рецептора, иммунная метка наблюдалась преимущественно в цитоплазме спонгиоцитов, реже – в мелких клетках (Рисунки 27, 28).

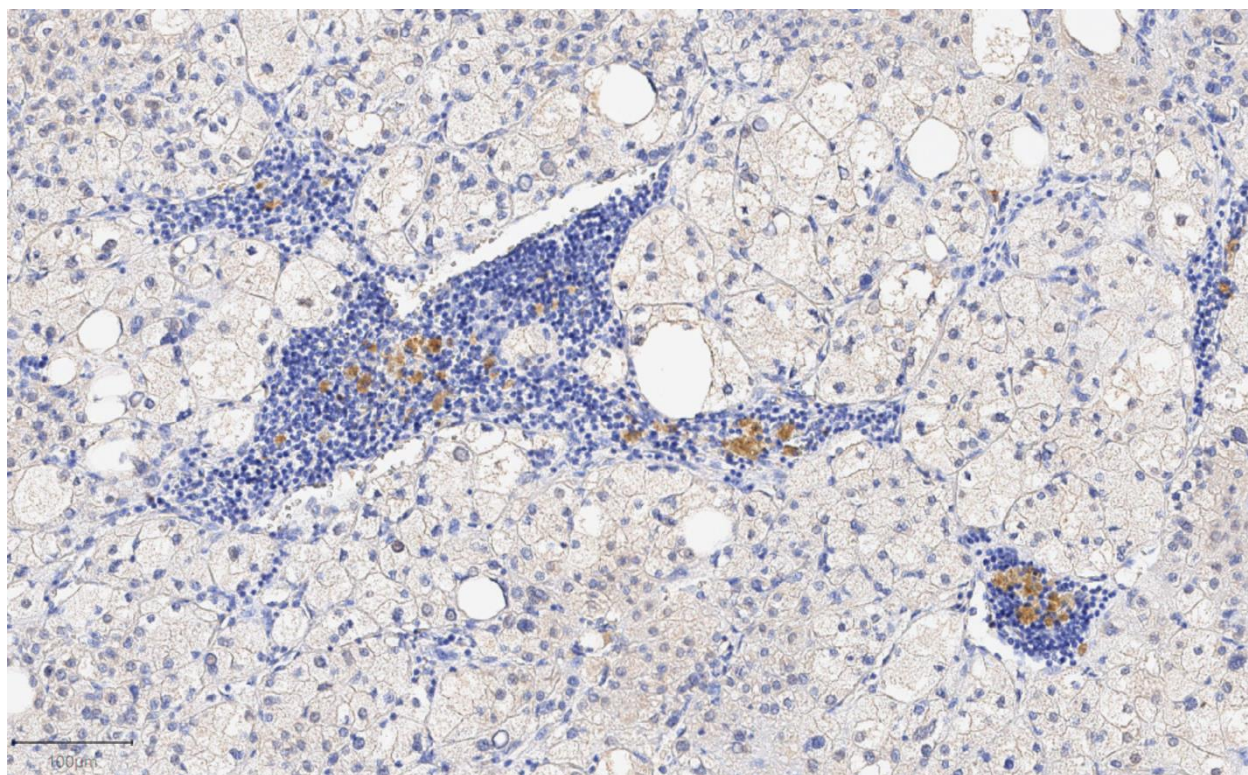


Рисунок 27 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Слабая цитоплазматическая экспрессия 5-НТ7R единичными компактными клетками среди лимфоидных узлов ткани надпочечника (×400, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

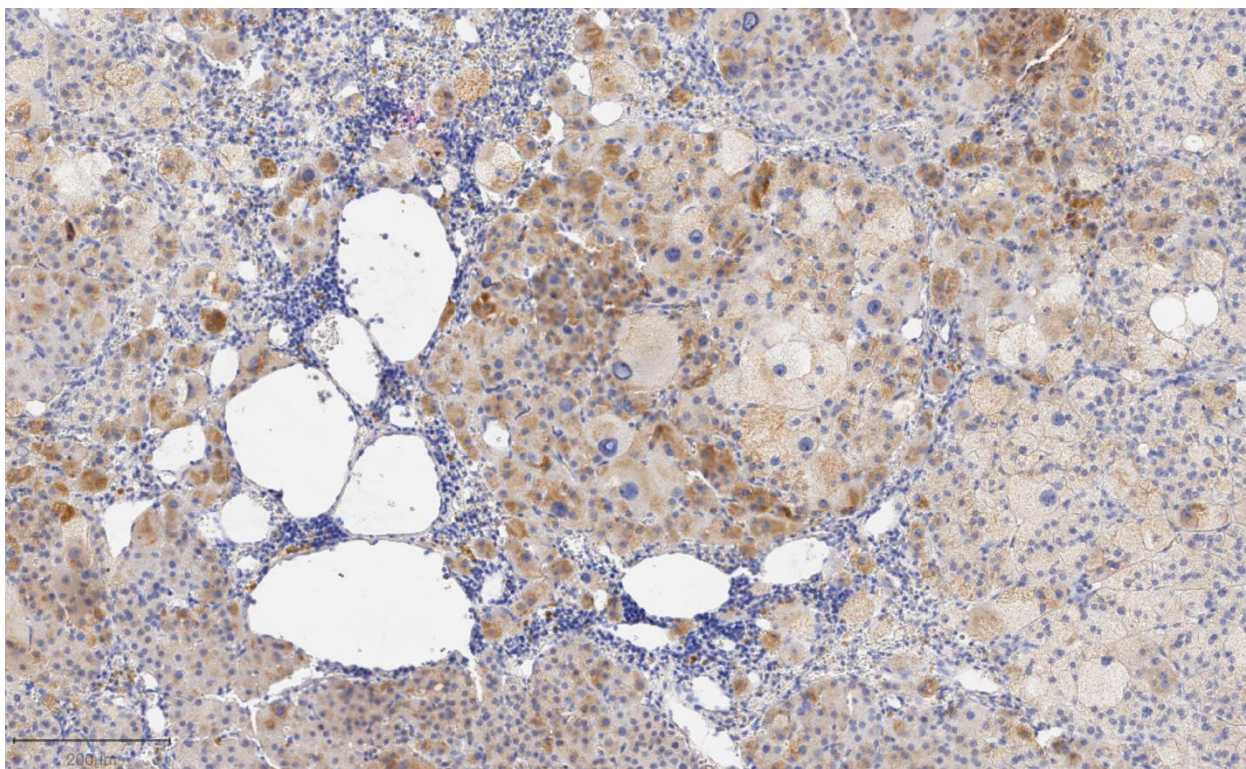


Рисунок 28 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная цитоплазматическая реакция с антителами против 5-HT7R в обеих субпопуляциях клеток узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

В контрольной группе (неизмененных тканях) иммунной реакции с анти-5-HT7R-антителом в корковом слое коры надпочечников не выявлено (Рисунок 29).

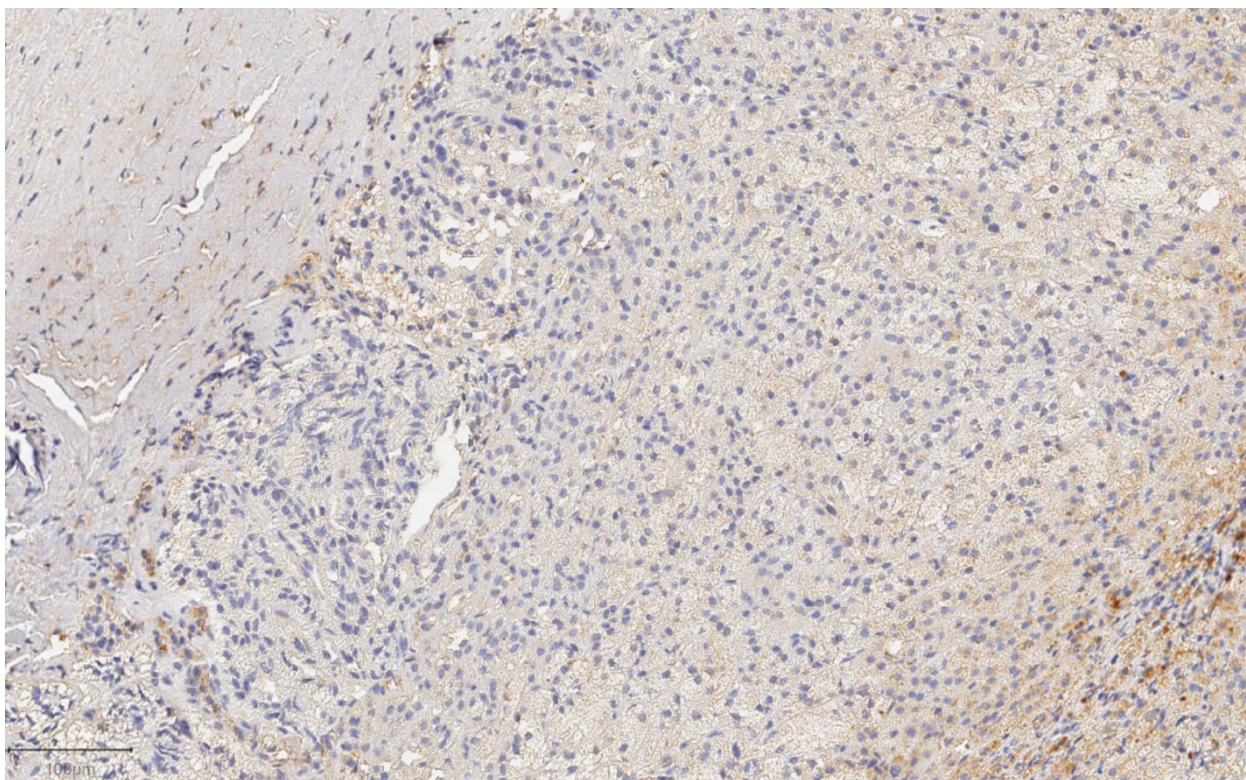


Рисунок 29 – Контрольная ткань. Отсутствие реакции с антителами против 5-HT7R ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Е. 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). Иммунная метка присутствовала исключительно в цитоплазме клеток. В неизмененных тканях иммунной реакции с анти-AVPR1-антителом не выявлено. При полуколичественной оценке экспрессии вазопрессиновых рецепторов 1-го типа во всех образцах отмечалась слабая экспрессия данных рецепторов (+) (Рисунки 30, 31).

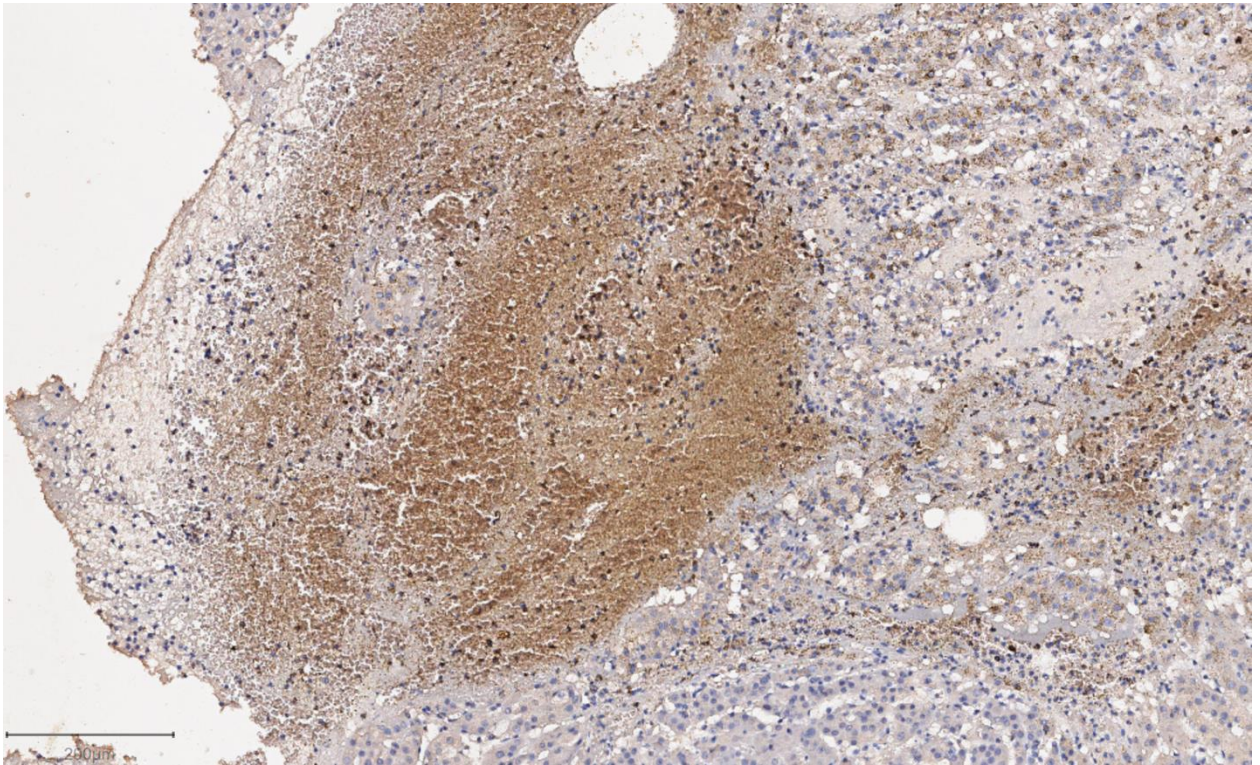


Рисунок 30 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная фокальная цитоплазматическая экспрессия AVPR компактными клетками узловой ткани надпочечника ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера).

При исследовании тканей контрольной группы отсутствовала реакция в пучковой зоне коры надпочечников.

Однако отмечено присутствие слабой положительной цитоплазматической реакции с анти-AVPR-антителом в сетчатой зоне коры надпочечников, находящейся непосредственно на границе с мозговым слоем, в 4 случаях (28,5%) (Рисунок 32).

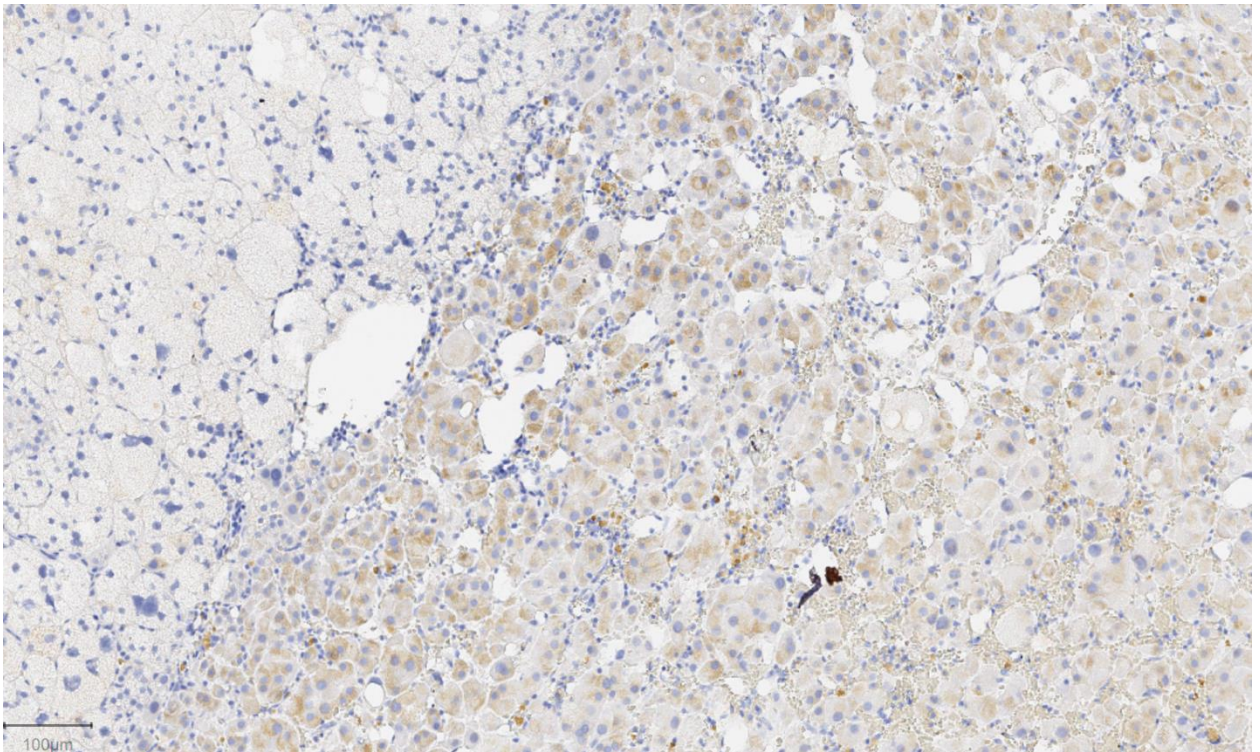


Рисунок 31 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Слабая фокальная цитоплазматическая экспрессия AVPR спонгиозитами клетками узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

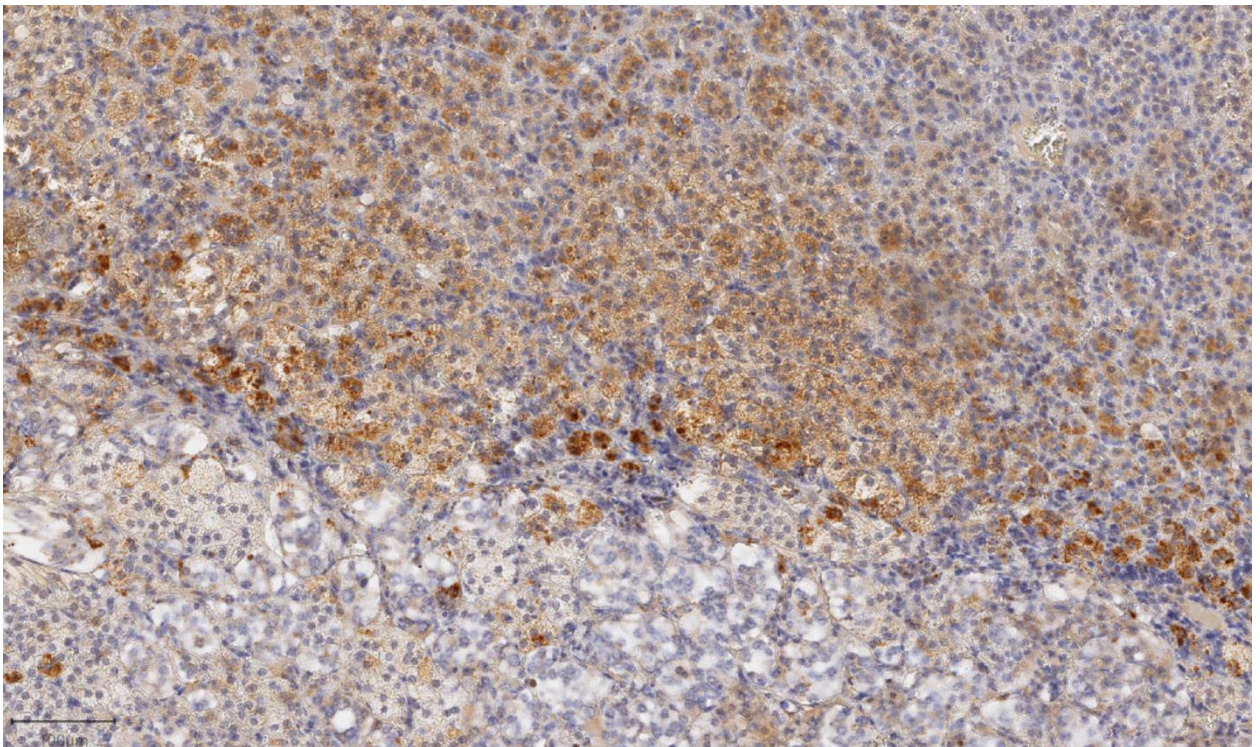


Рисунок 32 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная фокальная цитоплазматическая экспрессия AVPR клетками сетчатой зоны неизменного надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

Отрицательная реакция представлена на Рисунке 33.

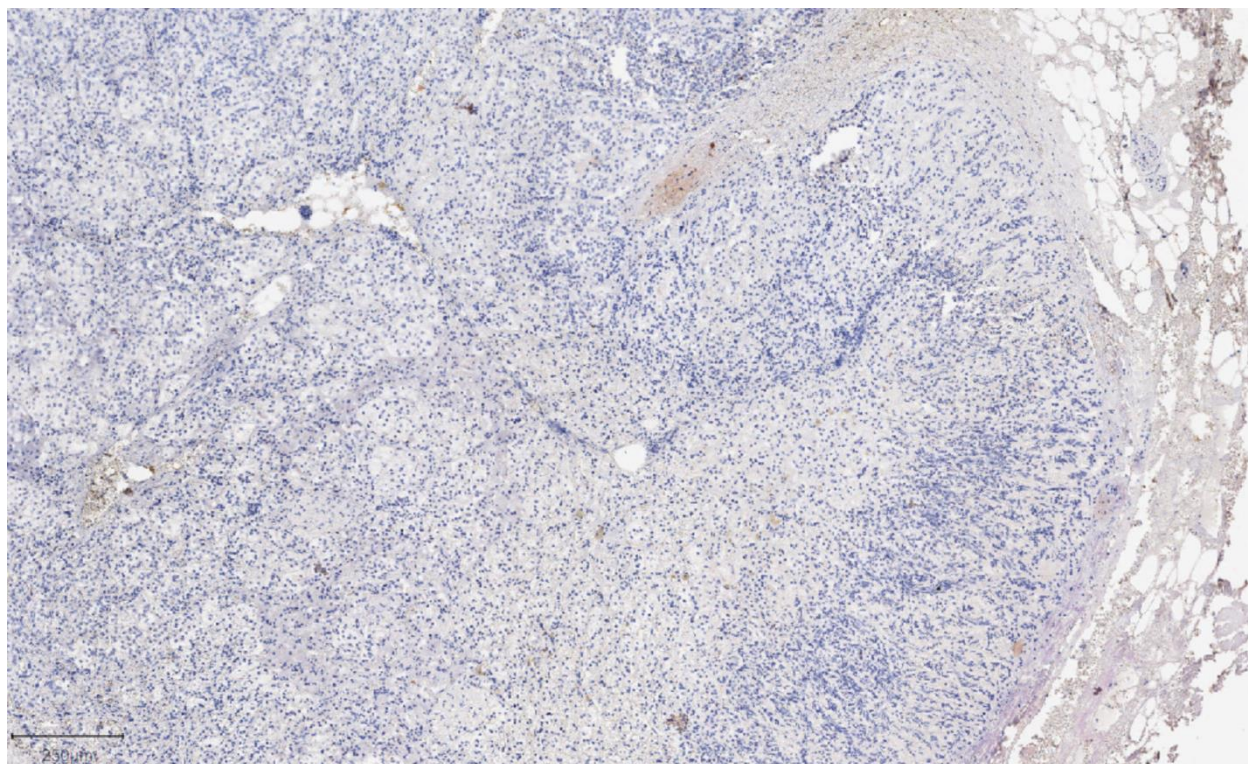


Рисунок 33 – Контрольная ткань. Отсутствие реакции с анти-AVPR-антителом ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

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

Экспрессия аутопического 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 34).

В свою очередь, умеренная и выраженная реакция в 4 и 3 случаях, соответственно (Рисунки 35, 36).

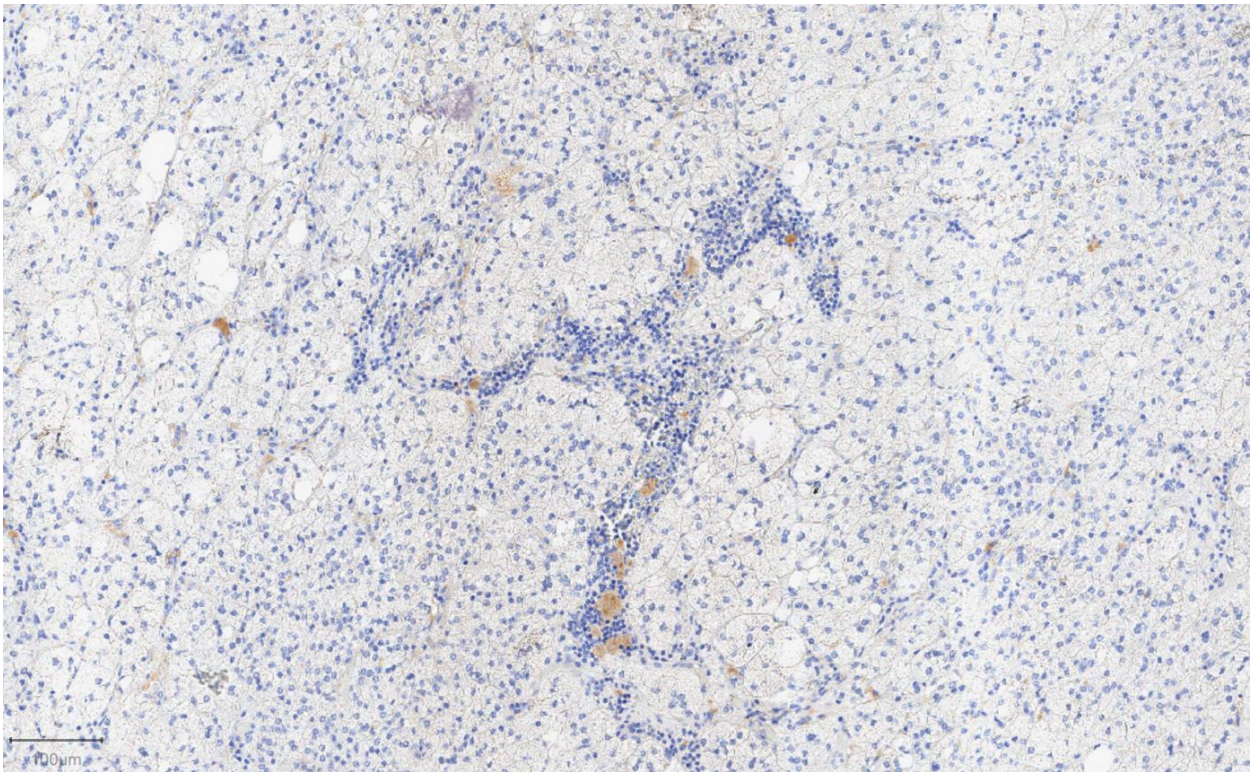


Рисунок 34 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Единичные иммунопозитивные (+) с антителами против LH/hCGR компактные клетки, окруженные множественными лимфоидными элементами узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

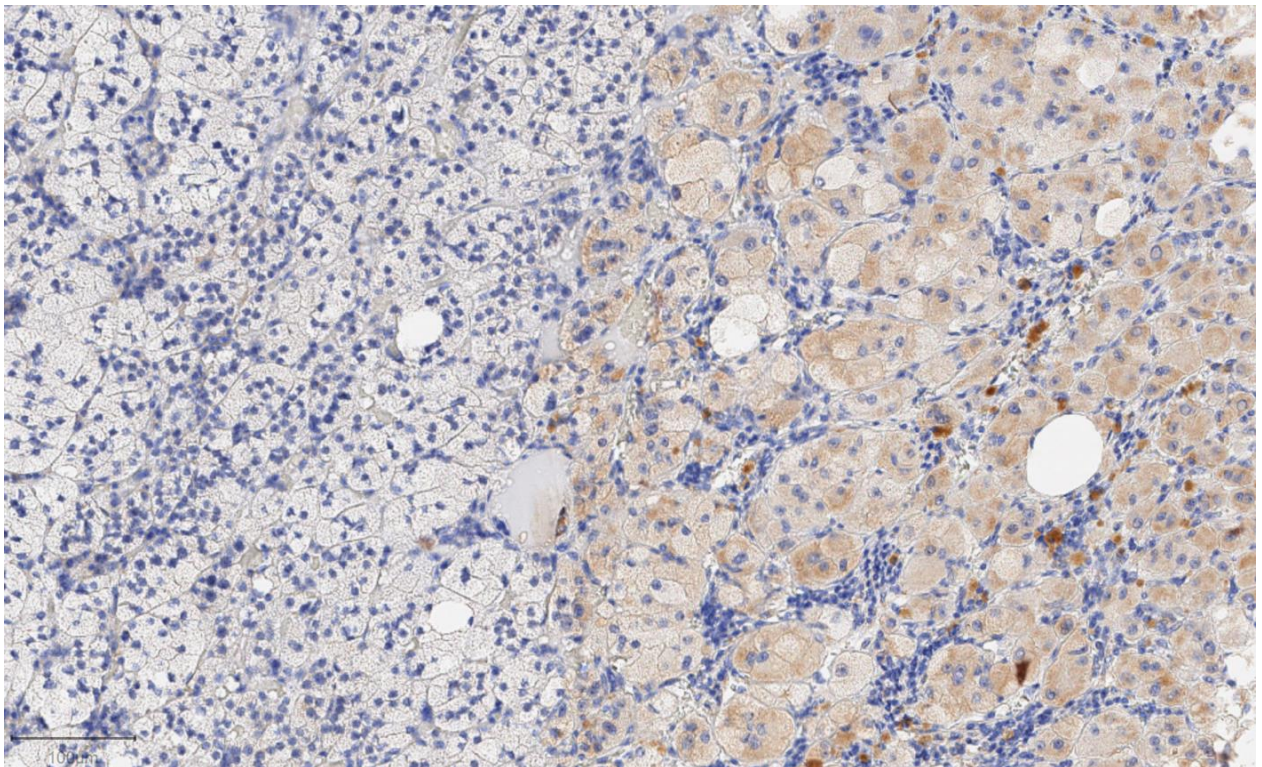


Рисунок 35 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Слабовыраженное мечение антителами против LH/hCGR в цитоплазме спонгиозитов и умеренное прокрашивание компактных клеток узловой ткани надпочечника ($\times 400$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

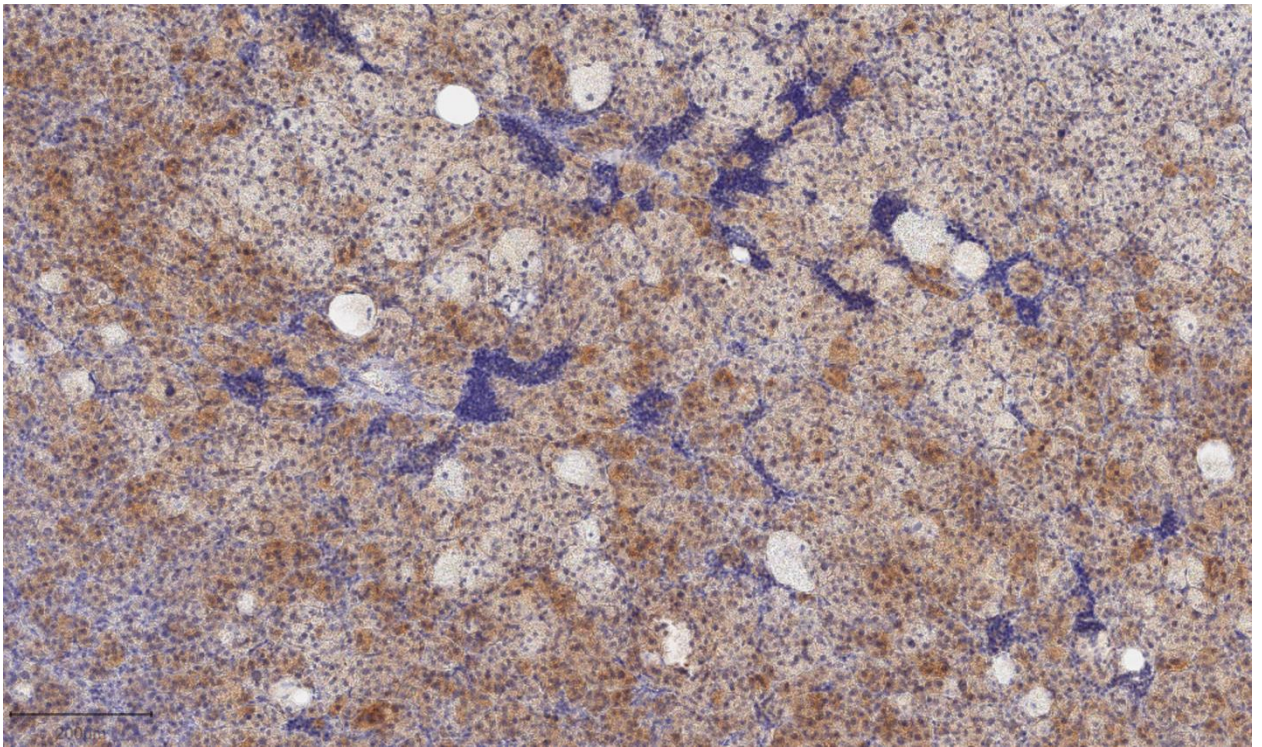


Рисунок 36 – Иммуногистохимические особенности МДГН. Умеренная цитоплазматическая реакция с антителами против LH/hCGR спонгиозитов в узловой ткани надпочечника ($\times 200$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера)

В контрольной группе экспрессии LH/hCGR в корковом слое коры надпочечников не выявлено (Рисунок 37).

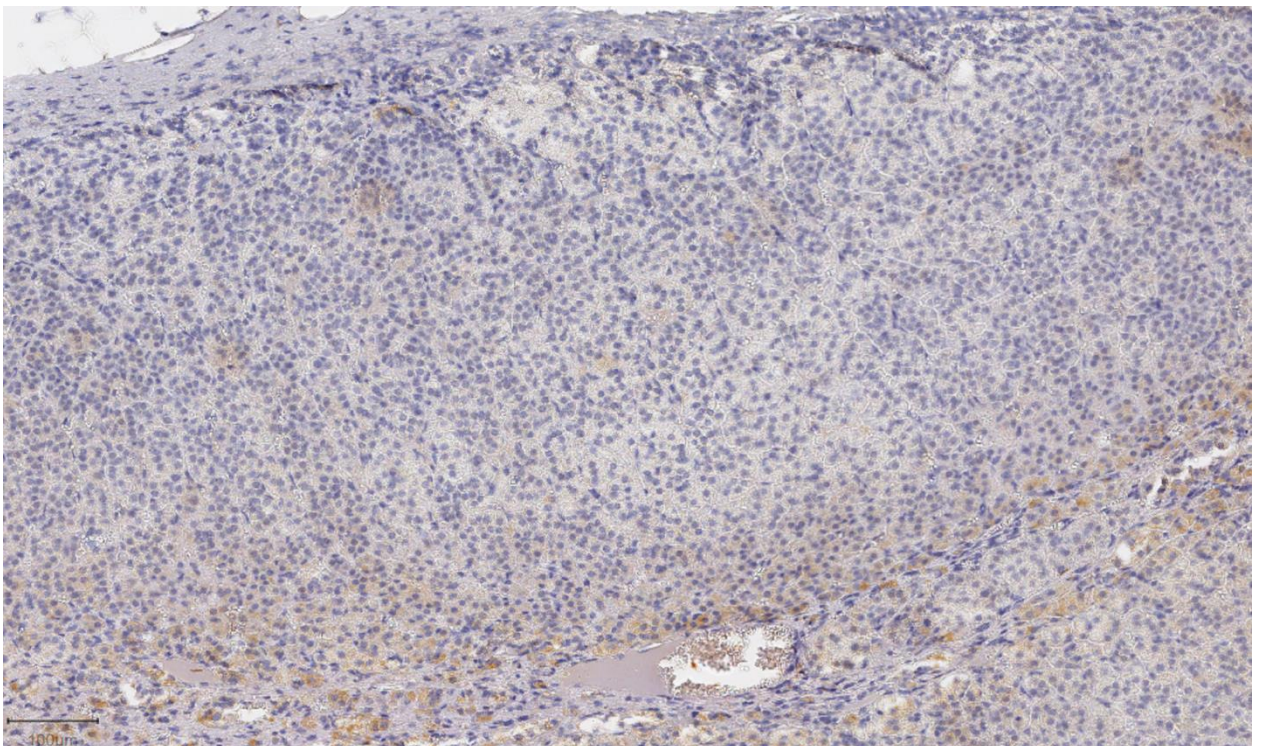


Рисунок 37 – Контрольная ткань. Отсутствие реакции с антителами против LH/hCGR ($\times 100$, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера).

Таблица 17 – Результаты ИГХ-исследования экспрессии различных аберрантных и эутопических рецепторов в образцах тканей пациентов с МДГН

	$\beta 1-AR$	$\beta 2-AR$	$\alpha 2A-AR$	$V1-AVPR$	$GIPR$	$ACTH$	$5-HT7R$	$LH/hCGR$
Пациент 1	+++	+	+	-	+	+ ед.клетки	-	+ ед.клетки
Пациент 2	++	+	+	-	+	+	+	+ ед.клетки
Пациент 3	+++	+++	-	++	+	+	+	+
Пациент 4	+	+	+	-	+	+	+ ед.клетки	+
Пациент 5	+++	++	++	-	-	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки
Пациент 6	+	+	-	-	+	+	-	-
Пациент 7	+	+++	+	+	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки	+
Пациент 7	+	+++	+	+	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки	+
Пациент 8	+	+++	+	-	+	++	-	+
Пациент 9	+++	+	+	-	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки	+ ед.клетки
Пациент 10	+++	++	+	-	-	+	-	-
Пациент 11	+++	+	+	-	-	+	-	+
Пациент 12	+++	+	+	-	-	+ ед.клетки	+ ед.клетки	+++
Пациент 13	+++	+++	+	+	+	+++	-	++
Пациент 14	+	+	-	+	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки	+ ед.клетки
Пациент 15	++	++	+	-	+	-	-	+ ед.клетки
Пациент 16	+++	+++	+++	+	+++	++	++	++
Пациент 17	++	++	+	+	+	+	+ ед.клетки	+
Пациент 18	+	+	-	-	+	+ ед.клетки	+	+ ед.клетки
Пациент 19	+	++	+	-	+	+++	++	++
Пациент 20	+	+++	+	+	+	++	+ ед.клетки	+++
Пациент 21	++	+++	++	-	+	+	-	+++
Пациент 22	+	+	+	-	+	+	-	-
Пациент 23	++	+++	+	-	-	+	-	-
Пациент 24	+++	+++	+	-	+	-	+	++
Пациент 25	+	+	+	-	-	-	+	+
Пациент 26	+	+	-	-	-	+	+ ед.клетки	+ ед.клетки
Пациент 27	+	+	+	-	-	+	-	+
Пациент 28	+	+	-	-	-	-	-	-

Таблица 18 – Результаты анализа экспрессии aberrантных и аутопических рецепторов в образцах тканей группы контроля

	$\beta 1$ -AR	$\beta 2$ -AR	$\alpha 2A$ -AR	VI-AVPR	GIPR	ACTH	5-HT7R	LH/hCGR
Пациент 1	++	+++	-	+	-	-	-	-
Пациент 2	+	++	-	-	-	-	-	-
Пациент 3	+++	++	-	-	-	-	-	-
Пациент 4	++	+	+	-	-	-	-	-
Пациент 5	++	+	+	-	-	-	-	-
Пациент 6	+	+++	-	-	-	-	-	-
Пациент 7	+	+	+	+	-	-	-	-
Пациент 8	+	+++	-	-	-	-	-	-
Пациент 9	++	+++	-	-	-	-	-	-
Пациент 10	++	+	-	+	-	-	-	-
Пациент 11	++	+	-	-	-	-	-	-
Пациент 12	++	++	+	-	-	-	-	-
Пациент 13	+	+++	+	+	-	-	-	-
Пациент 14	+	++	+	-	-	-	-	-

3.3.2. Обсуждение полученных результатов

ИГХ-исследование экспрессии рецепторов клеток при МДГН продемонстрировало, что у каждого пациента с данным заболеванием идентифицируется более 1 нелегитимного/эутопического рецептора, что безусловно затрудняет подбор специфической или таргетной медикаментозной терапии. Эти результаты в целом согласуются с более ранними литературными данными, однако, в указанных работах, методом идентификации рецепторов являлись ПЦР-РВ и/или функциональные тесты тканей с агонистами, более того одномоментного исследования такого количества рецепторов ИГХ-методом не проводилось. В систематических обзорах, целью которых являлось определение распространенности различных рецепторов при МДГН в большинстве случаев проводились лишь стимуляционные тесты на дооперационном этапе, то есть фиксировался сам факт стимуляции стероидогенеза, определить какой именно тип рецепторов был задействован невозможно. В нашей работе впервые проведено ИГХ-исследование множественных рецепторов у 28 пациентов с МДГН. 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 спонгиозитов 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, AVPR₁R, LH/hCGR) или АКТГ, допускается получение ложно-негативного результата, когда в исследуемой части образца отсутствует очаг экспрессии данного рецептора, а в соседнем фрагменте, не попавшем 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.

Нами было впервые проведено ИГХ-исследование неизменной ткани надпочечников в качестве контроля. Стоит отметить, что за исключением исследования Spagnolo и соавт., в котором исследовалась экспрессия β 2-AR в здоровой ткани надпочечников, других аналогичных работ не проводилось [192].

Внутриадrenalовая аномальная секреция АКТГ была зафиксирована у большей части пациентов – 85,7%. Корреляции между внутриадrenalовой экспрессией АКТГ и концентрацией данного тропного гормона в крови не выявлено, уровень АКТГ был в столь значительной супрессии, что в большинстве случаев не определялся в плазме, таким образом наши результаты согласуются с выдвинутой Louiset и соавт. гипотезой о том, что АКТГ быстро метаболизируется *in situ*

после связывания со своим рецептором MC2R на поверхности клеток коры надпочечников и тем самым не влияет на концентрацию АКТГ плазмы [116]. В группе контроля наблюдается полное отсутствие иммунопозитивной метки с анти-АКТГ-антителом в клетках неизменной коры надпочечников. Среди 23 пациентов иммунопозитивные клетки были представлены только компактными клетками, что частично опровергает результаты, представленные в ранее опубликованных работах, где у половины больных АКТГ-продуцирующие клетки были представлены спонгиозитами [116].

Впервые проведено ИГХ-исследование для оценки экспрессии GPR при МДГН. Аберрантная экспрессия данных рецепторов зафиксирована в обеих субпопуляциях клеток и выявлена в 67,8% случаев, при этом в большинстве образцов наблюдалась экспрессия данного рецептора в компактных клетках. Интенсивная экспрессия (+++) данного рецептора выявлена у 1 пациента, что с высокой долей вероятности свидетельствует о значительном влиянии ГИП на стероидогенез и на клеточную пролиферацию в узлах МДГН у данного пациента. В остальных случаях визуализировалась слабая экспрессия GPR, что предполагает лишь частичное, а не основополагающее влияние ГИП на избыточную секрецию ГКС и пролиферацию клеток надпочечников и, соответственно, рост узлов. Экспрессия данного рецептора отсутствовала полностью в группе контроля, что подтверждает аберрантную природу GPR.

По результатам нашего исследования было выявлено, что наиболее распространёнными рецепторами при МДГН являются адренорецепторы, среди исследуемых образцов $\alpha 2A$ -AR выявлены в 78,5%, а $\beta 2$ -AR и $\beta 1$ -AR в 100% случаев. По распространенности экспрессии $\alpha 2A$ -AR, нами получены данные, аналогичные ранее проведенному исследованию [15], распространенность $\beta 2$ -AR и $\beta 1$ -AR не исследовалась ранее. Впервые одномоментно проведена оценка экспрессии различных адренорецепторов в тканях при МДГН, по результатам нашей работы впервые зафиксирована изолированная секреция $\beta 1$ -AR. Интересно, что при выраженной очаговой экспрессии $\beta 1$ -AR в данном образце была зафиксирована очень слабая реакция с анти- $\beta 2$ -AR-антителом в одном кластере клеток, что не позволяет нам в полной мере констатировать полное отсутствие данного рецептора в тканях, однако, влияние его экспрессии на стероидогенез у данного пациента ставится под сомнение. Впервые зафиксирована экспрессия α и β -AR в неизменных тканях коры надпочечников, ввиду чего, можно выдвинуть предположение, что данные рецепторы не являются аберрантными, более того, не выявлено разницы между степенью экспрессии данных рецепторов в тканях при МДГН и контроле. Данные результаты позволяют сделать вывод, что в основе патогенеза гиперсекреции стероидов лежит не количественное увеличение данных рецепторов, а, вероятно, задействованы иные механизмы. Нами предположено, что в процессе избыточного стероидогенеза лежит не сам факт активации данных аутопических рецепто-

ров с последующей каскадной реакцией в цАМФ/ПКА пути, но и процесс нарушения дезактивации ПКА, однако, необходимо более глубокое исследование ферментов, принимающих участие в данном процессе, в том числе исследование генетических мутаций, ассоциированных с данным феноменом. Или же, учитывая тот факт, что адренорецепторы выявлены в коре неизмененных надпочечников, существует вероятность неких конформационных изменений рецепторов, которые могут приводить к сверхчувствительности рецепторов к стимулу. Для более детального исследования рецепторной гетерогенности узловых образований надпочечников при различных патологиях, представляет особый интерес более глубокое изучение рецепторного профиля надпочечников в норме.

В свою очередь серотониновые рецепторы 7 типа выявлены в более чем половине случаев (57,1%), полученные результаты несколько превосходят описанные на сегодняшний день данные [127], [108]. Кроме того, по результатам ранее проведенных исследований иммунная метка присутствовала в обоих типах клеток, в наших образцах иммунопозитивные клетки были расположены в толще кластеров компактных клеток. Признаков экспрессии серотониновых рецепторов в здоровой ткани при этом не обнаружено.

Произведена оценка экспрессии эутопических рецепторов. Полученные в ходе нашей работы результаты по вазопрессинам 1-го типа в целом соответствуют данным предыдущих исследований. В 25% образцов выявлена слабая цитоплазматическая реакция в больших спонгиозитах, компактные клетки были интактны. При сравнении с группой контроля, где процент положительной реакции в образцах составил 28,5%, выявлено что данный тип рецептора экспрессируется преимущественно в сетчатой зоне коры надпочечников, находящейся непосредственно на границе с мозговым слоем, однако, выявлено и слабopоложительная цитоплазматическая реакция в клетках пучковой зоны. В литературе описана физиологическая экспрессия 5-HT₇R в надпочечниках крыс, однако, лишь в клубочковой зоне [127]. Функциональная роль 5-HT₇R в адренокортикальных клетках неизвестна.

Экспрессия эутопического LH/hCGR выявлена в 23 образцах из 28 (82,1%). Интересно, что данный тип рецептора, наблюдаемый в большинстве случаев у женщин в постменопаузальном периоде, в нашей работе был обнаружен в материале у 3 из 5 мужчин. Референсные диапазоны экспрессии эутопических рецепторов на данный момент не определены. По результатам нашего исследования в контрольной группе не выявлено секреции LH/hCGR, что не соответствует ранее опубликованным данным, которые сообщают о положительной мембранной реакции в единичных клетках с анти-LH/hCGR-антителом во всех зонах неопухолевой коры надпочечников [99]. Исходя из полученных результатов и данных литературы предположено, что LH/hCGR может присутствовать в нормальных тканях надпочечников, однако только при определенных усло-

виях, что не входило в задачи нашего исследования, вследствие чего, необходимо более детальное изучение факторов, способствующих их экспрессии в нормальной ткани надпочечника для определения референсного интервала. С высокой долей вероятности, физиологическая экспрессия данного рецептора столь незначительна, что его влияние на секрецию стероидных гормонов минимально или отсутствует вовсе, даже когда концентрации ЛГ или ХГЧ в сыворотке повышены.

Патогномоничным для некоторых рецепторов, в частности для GIPR, 5-HT7R, LH/hCGR, а также АКТГ, явился феномен скопления лимфоидных клеток вокруг иммунопозитивных компактных адренокортикальных клеток. Данный феномен описан впервые, влияние лимфоидной ткани на адренокортикальные клетки при МДГН не изучено, также не исследована ни степень иммунной инфильтрации, ни её прогностическое значение. Известно, что различные популяции иммунных клеток могут оказывать различное влияние на рост образований. Представляется интересным рассмотрение процесса с иммунологической точкой зрения.

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 aberrантных 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 ложно-отрицательного результата, в случае непопадания данного кластера в исследуемых срезах ткани. Однако, представляется перспективным дальнейшее исследование не только рецепторной гетерогенности узлов при МДГН, но и более детальное исследование вовлекаемых молекулярных механизмов в клетках, которые позволят дать характеристику фармакологического профиля эктопических рецепторов при МДГН, что в последующем может дать возможность разработки новых фармакологических методов лечения МДГН.

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 эуортицизма 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 эуортицизма 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 Ласгоix 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 (Рисунок 38).

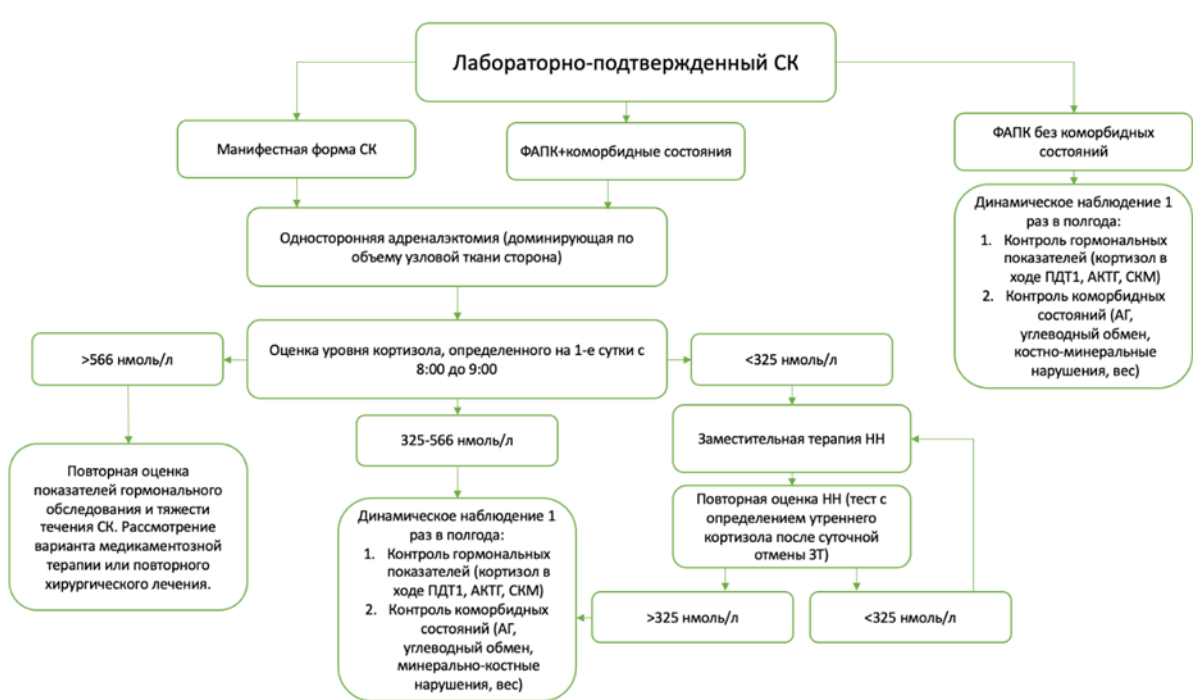


Рисунок 38 - Алгоритм ведения пациентов с МДГН, сопровождающимся СК.

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. Рекомендуется полугодовое обследование для исключения рецидива гиперкортицизма пациентам с МДГН после ОА.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Односторонняя адреналэктомия высокоэффективна в качестве первого этапа лечения СК при МДГН, так как в подавляющем большинстве наблюдений позволяет достигнуть длительной биохимической ремиссии 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 полирецепторная экспрессия нелегитимных рецепторов. Вопрос об эффективности таргетной терапии СК после ОА при МДГН должен быть дополнительно исследован с точки зрения полученных результатов о мультирецепторной экспрессии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- 5-HT₄R – рецептор серотонина 4-го типа
5-HT₇R – рецептор серотонина 7-го типа
АКТГ – адренокортикотропный гормон
АКР – адренокортикальный рак
БИК – болезнь Иценко – Кушинга
ГГНО – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось
ГИП – глюкозозависимый инсулиотропный полипептид
ГнРГ – гонадотропин-рилизинг-гормон
ИГХ – иммуногистохимическое исследование
ИМТ – индекс массы тела
ИФА – иммуноферментный анализ
КРГ – кортикотропин-рилизинг-гормон
ЛГ – лютеинизирующий гормон
МДГН – макронодулярная двусторонняя гиперплазия надпочечников
МРТ – магнитно-резонансная томография
МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
МЭН 1 – синдром множественной эндокринной неоплазии 1 типа
НН – надпочечниковая недостаточность
ОА – односторонняя адреналэктомия
ПДТ1 – ночной подавляющий тест с 1 мг дексаметазона
ПКА – протеинкиназа А
ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата
ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РФП – радиофармацевтический препарат
САП – семейный аденоматозный полипоз
СК – синдром Кушинга
СКМ – кортизол суточной мочи
СОГ – синдром отмены глюкокортикоидов
ССВЗК – сравнительный селективный забор из вен надпочечников
ТК – транскортин
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФАПК – функционально автономная продукция кортизола
ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

HbA1c – гликированный гемоглобин

LN/hCGR – рецептор лютеинизирующего гормона/хорионического гонадотропина человека

GIPR – рецептор глюкозозависимого инсулиотропного полипептида

GPCR – рецептор, связанный с G-белком

V1-AVPR – рецептор вазопрессина 1-го типа

α 2A-AR – альфа 2A адренорецептор

β 1-AR – бета адренорецептор 1-го типа

β 2-AR – бета адренорецептор 2-го типа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Acharya, R. Outcomes of Adrenal Venous Sampling in Patients with Bilateral Adrenal Masses and ACTH-Independent Cushing's Syndrome / R. Acharya [et al.] // World Journal of Surgery. – 2019. – № 2 (43). – P. 527–533.
2. Al-Hawary, M. M. Non-invasive evaluation of the incidentally detected indeterminate adrenal mass / M. M. Al-Hawary, I. R. Francis, M. Korobkin // Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2005. – № 2 (19). – P. 277–292.
3. Albiger, N. M. Food-dependent Cushing's syndrome: From molecular characterization to therapeutical results / N. M. Albiger [et al.] // European Journal of Endocrinology. – 2007. – № 6 (157). – P. 771–778.
4. Albiger, N. M. An analysis of different therapeutic options in patients with Cushing's syndrome due to bilateral macronodular adrenal hyperplasia: A single-centre experience / N. M. Albiger [et al.] // Clinical Endocrinology. – 2015. – № 6 (82). – P. 808–815.
5. Albiger, N. M. A multicenter experience on the prevalence of ARMC5 mutations in patients with primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia: from genetic characterization to clinical phenotype / N. M. Albiger [et al.] // Endocrine. – 2017. – № 3 (55). – P. 959–968.
6. Alencar, G. A. ARMC5 mutations are a frequent cause of primary macronodular adrenal hyperplasia / G. A. Alencar [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2014. – № 8 (99). – P. 1–10.
7. Almeida, M. Q. The structure and function of G-protein-coupled receptors / M. Q. Almeida [et al.] // Nature. – 2009. – № 4 (18). – P. 29–33.
8. Androulakis, I. I. The functional status of incidentally discovered bilateral adrenal lesions / I. I. Androulakis [et al.] // Clinical Endocrinology. – 2011. – № 1 (75). – P. 44–49.
9. Antonini, S. R. Expression of ACTH receptor pathway genes in glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP)-dependent Cushing's syndrome / S. R. Antonini [et al.] // Clinical Endocrinology. – 2006. – № 1 (64). – P. 29–36.
10. Araujo-Castro, M. Autonomous cortisol secretion in adrenal incidentalomas / M. Araujo-Castro, M. A. Sampedro Núñez, M. Marazuela // Endocrine. – 2019. – № 1 (64).
11. Arnaldi, G. Vasopressin receptors modulate the pharmacological phenotypes of Cushing's syndrome / G. Arnaldi, Y. de Keyser, J. M. Gasc, E. B. X. Clauser // Endocr. Res. 1998. – № 3–4 (24). – P. 807–816.
12. Arnaldi, G. Variable expression of the V1 vasopressin receptor modulates the phenotypic response of steroid-secreting adrenocortical tumors / G. Arnaldi [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 1998. – № 6 (83). – P. 2029–2035.
13. Asgharian, B. Meningiomas May Be a Component Tumor of Multiple Endocrine Neoplasia Type 1

/ B. Asgharian [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2004. – № 3 (10). – P. 869–880.

14. Asmar Alencar, G. 18F-FDG-PET/CT imaging of ACTH-independent macronodular adrenocortical hyperplasia (AIMAH) demonstrating increased 18F-FDG uptake / G. Asmar Alencar [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2011. – № 11 (96). – P. 3300–3301.

15. Assie, G. Systematic analysis of G protein-coupled receptor gene expression in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenocortical hyperplasia identifies novel targets for pharmacological control of adrenal Cushing's syndrome / G. Assie [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2010. – № 10 (95). – P. 253–262.

16. Assié, G. ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with cushing's syndrome / G. Assié [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – № 22 (369). – P. 2105–2114.

17. Beltsevich, D. G. Draft of the clinical practice guidelines “Adrenal incidentaloma” / D. G. Beltsevich [et al.] // *Endocrine Surgery*. – 2021. – № 1 (15). – P. 4–26.

18. Bertagna, X. Aberrant receptor-mediated Cushing's syndrome / X. Bertagna [et al.] // *Hormone Research*. – 2003. – № 59 (Suppl. 1). – P. 99–103.

19. Bertherat, J. In Vivo and in Vitro screening for illegitimate receptors in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia causing cushing's syndrome: Identification of two cases of gonadotropin/gastric inhibitory polypeptide-dependent hypercortisolism / J. Bertherat [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2005. – № 3 (90). – P. 1302–1310.

20. Berthon, A. Age-dependent effects of Armc5 haploinsufficiency on adrenocortical function / , A. Berthon, , F. R. Faucz, , S. Espiard [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2017. – № 18 (26). – P. 3495–3507.

21. Bimpaki, E. I. MicroRNA signature in massive macronodular adrenocortical disease and implications for adrenocortical tumorigenesis / E. I. Bimpaki [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2010. – № 6 (72). – P. 744–751.

22. Bolland, M. J. Mortality and morbidity in Cushing's syndrome in New Zealand / M. J. Bolland [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2011. – № 4 (75). – P. 436–442.

23. Bornstein, S. R. Adrenocortical tumors: Recent advances in basic concepts and clinical management / S. R. Bornstein, C. A. Stratakis, G. P. Chrousos // *Annals of Internal Medicine*. 1999. – № 9 (130). – P. 759–771.

24. Bourdeau, I. Discovered Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia with Subclinical Cushing ' s Syndrome / I. Bourdeau [et al.]. // *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2001. – № 11 (86). – P. 5534–5540.

25. Bourdeau, I. Gene array analysis of macronodular adrenal hyperplasia confirms clinical heterogeneity and identifies several candidate genes as molecular mediators / I. Bourdeau [et al.] // *Oncogene*. – 2004. – № 8 (23). – P. 1575–1585.

26. Bourdeau, I. ARMC5 mutations in a large French-Canadian family with cortisol-secreting β -adrenergic/vasopressin responsive bilateral macronodular adrenal hyperplasia / I. Bourdeau [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2016. – № 1 (174). – P. 85–96.
27. Bourdeau I. [et al.]. Differential diagnosis, investigation and therapy of bilateral adrenal incidentalomas / I. Bourdeau [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2018. – № 2 (179). – P. 57–67.
28. Brown, R. J. Cushing syndrome in the McCune-Albright syndrome / R. J. Brown, M. H. Kelly, M. T. Collins // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2010. – № 4 (95). – P. 1508–1515.
29. Carlson, H. E. Human adrenal cortex hyperfunction due to LH/hCG / H. E. Carlson // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2007. – № 1-2 Spec. iss. (269). – P. 46–50.
30. Carney, J. A. Primary bimorphic adrenocortical disease: Cause of hypercortisolism in mccune-albright syndrome / J. A. Carney, W. F. Young, C. A. Stratakis // *American Journal of Surgical Pathology*. – 2011. – № 9 (35). – P. 1311–1326.
31. Carr, R. D. Incretin and islet hormonal responses to fat and protein ingestion in healthy men / R. D. Carr [et al.] // *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. – 2008. – № 4 (295). – P. 779–785.
32. Cartier, D. Overexpression of serotonin₄ receptors in cisapride-responsive adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome / D. Cartier [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – № 1 (88). – P. 248–254.
33. Cawood, T. J. Recommended evaluation of adrenal incidentalomas is costly, has high false-positive rates and confers a risk of fatal cancer that is similar to the risk of the adrenal lesion becoming malignant; time for a rethink? / T. J. Cawood [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2009. – № 4 (161). – P. 513–527.
34. Chabre, O. Cushing's syndrome due to a gastric inhibitory polypeptide-dependent adrenal adenoma: Insights into hormonal control of adrenocortical tumorigenesis / O. Chabre [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1998. – № 9 (83). – P. 3134–3143.
35. Ahn, C. H. Epidemiology and Comorbidity of Adrenal Cushing's Syndrome: A Nationwide Cohort Study / C. H. Ahn, J. H. Kim, M. Y. Park, S. W. Kim // *Current Medical Research and Opinion*. – 2021. – № 106 (3). – P. 1362–1372.
36. Chevais, A. Immunohistochemical study on the expression/hyperexpression of aberrant/eutopic receptors in patients with bilateral macronodular adrenal hyperplasia / A. Chevais [et al.] // *Problemy Endokrinologii*. – 2020. – № 6 (66). – P. 4–12.
37. Chevais, A. Clinical and genetic heterogeneity of micronodular adrenal hyperplasia / A. Chevais [et al.] // *Endocrine Surgery*. – 2021. – № 1 (15). – P. 27–35.
38. Chiu, T. Vasopressin-mediated mitogenic signaling in intestinal epithelial cells / T. Chiu [et al.] //

American Journal of Physiology – Cell Physiology. – 2002. – № 351-3 (282). – P. 434–451.

39. Christopoulos, S. Aberrant expression of hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome / S. Christopoulos, I. Bourdeau, A. Lacroix // *Pituitary*. – 2004. – № 4 (7). – P. 225–235.

40. Claahsen-van der Grinten, H. L. Testicular Adrenal Rest Tumours in Congenital Adrenal Hyperplasia / H. L. Claahsen-van der Grinten, A. R. M. M. Hermus, B. J. Otten // *International Journal of Pediatric Endocrinology*. – 2009. – № 1. – P. 1–8.

41. Clayton, R. N. Mortality in patients with Cushing's disease more than 10 years after remission: A multicentre, multinational, retrospective cohort study / R. N. Clayton [et al.] // *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. – 2016. – № 7 (4). – P. 569–576.

42. Collins, M. T. Renal phosphate wasting in fibrous dysplasia of bone is part of a generalized renal tubular dysfunction similar to that seen in tumor-induced osteomalacia / M. T. Collins [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2001. – № 5 (16). – P. 806–813.

43. Correa, R. The ARMC5 gene shows extensive genetic variance in primary macronodular adrenocortical hyperplasia / R. Correa [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2015. – № 4 (173). – P. 435–440.

44. Cortez, V. Regulation of catecholamine release in human adrenal chromaffin cells by β -adrenoceptors / V. Cortez [et al.] // *Neurochemistry International*. – 2012. – № 4 (60). – P. 387–393.

45. Dall'Asta, C. Assessing the presence of abnormal regulation of cortisol secretion by membrane hormone receptors: In vivo and in vitro studies in patients with functioning and non-functioning adrenal adenoma / C. Dall'Asta [et al.] // *Hormone and Metabolic Research*. – 2004. – № 8 (36). – P. 578–583.

46. Dalmazi, G. Di Adrenal function after adrenalectomy for subclinical hypercortisolism and Cushing's syndrome: A systematic review of the literature / G. Di Dalmazi [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2014. – № 8 (99). – P. 2637–2645.

47. Debillon, E. Unilateral adrenalectomy as a first-line treatment of cushing's syndrome in patients with primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia / E. Debillon [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – № 12 (100). – P. 4417–4424.

48. Debono, M. Resetting the abnormal circadian cortisol rhythm in adrenal incidentaloma patients with mild autonomous cortisol secretion / M. Debono [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2017. – № 9 (102). – P. 3461–3469.

49. DiBartolomeis, M. J. Characterization of the acute stimulation of steroidogenesis in primary bovine adrenal cortical cell cultures / M. J. DiBartolomeis, C. R. Jefcoate // *Journal of Biological Chemistry*. 1984. – № 16 (259). – P. 10159–10167.

50. Doumith, R. Pituitary prolactinoma, adrenal aldosterone-producing adenomas, gastric schwannoma and colonic polyadenomas: A possible variant of multiple endocrine neoplasia (MEN) type I / R. Doumith [et al.] // *Acta Endocrinologica*. – 1982. – № 2 (100). – P. 189–195.

51. Ebbelohj, A. Epidemiology of adrenal tumours in Olmsted County, Minnesota, USA: a population-based cohort study / A. Ebbelohj [et al.] // *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. – 2020. – № 11 (8). – P. 894–902.
52. Ehrhart-Bornstein, M. Neurotransmitters and neuropeptides in the differential regulation of steroidogenesis in adrenocortical-chromaffin co-cultures / M. Ehrhart-Bornstein [et al.] // *Endocrine Research*. – 2000. – № 4 (26). – P. 833–842.
53. Elbelt, U. Molecular and clinical evidence for an ARMC5 tumor syndrome: Concurrent inactivating germline and somatic mutations are associated with both primary macronodular adrenal hyperplasia and meningioma / U. Elbelt [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – № 1 (100). – P. E119–E128.
54. Espiard, S. ARMC5 mutations in a large cohort of primary macronodular adrenal hyperplasia: Clinical and functional consequences / S. Espiard [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – № 6 (100). – P. E926–E935.
55. Etxabe, J. Morbidity and mortality in Cushing's disease: An epidemiological approach / J. Etxabe, J. A. Vazquez // *Clinical Endocrinology*. – 1994. – № 4 (40). – P. 479–484.
56. Fagour, C. Usefulness of adrenal scintigraphy in the follow-up of adrenocortical incidentalomas: A prospective multicenter study / C. Fagour [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2009. – № 2 (160). – P. 257–264.
57. Fassnacht, M. European society of endocrinology clinical practice guidelines on the management of adrenocortical carcinoma in adults, in collaboration with the European Network for the study of adrenal tumors / M. Fassnacht [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2018. – P. 1–88.
58. Faucz, F. R. Macronodular adrenal hyperplasia due to mutations in an armadillo repeat containing 5 (ARMC5) Gene: A clinical and genetic investigation / F. R. Faucz [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2014. – № 6 (99). – P. 1113–1119.
59. Feelders, R. A. Luteinizing hormone (LH)-responsive cushing's syndrome: The demonstration of LH receptor messenger ribonucleic acid in hyperplastic adrenal cells, which respond to chorionic gonadotropin and serotonin agonists in vitro / R. A. Feelders [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – № 1 (88). – P. 230–237.
60. Fennell, L. J. APC mutation marks an aggressive subtype of BRAF mutant colorectal cancers / L. J. Fennell [et al.] // *Cancers*. – 2020. – № 5 (12).
61. Ferri, J. Study of abnormal adrenal receptors in subjects with ACTH-independent Cushing's syndrome and nodular adrenal hyperplasia / J. Ferri [et al.] // *Endocrinología, Diabetes y Nutrición* (English ed.). – 2020. – № 4 (67). – P. 245–252.
62. Gagliardi, L. Familial vasopressin-sensitive ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia (VPs-AIMAH): clinical studies of three kindreds / L. Gagliardi [et al.] // *Clinical Endocrinology*. –

2009. – № 6 (70). – P. 883–891.

63. Gagliardi, L. Familial vasopressin-sensitive ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia (VPs-AIMAH): clinical studies of three kindreds / L. Gagliardi [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2009. – № 6 (49). – P. 403–409.

64. Gagliardi, L. ARMC5 mutations are common in familial bilateral macronodular adrenal hyperplasia / L. Gagliardi [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2014. – № 9 (99). – P. E1784–E1792.

65. Galac, S. Expression of receptors for luteinizing hormone, gastric-inhibitory polypeptide, and vasopressin in normal adrenal glands and cortisol-secreting adrenocortical tumors in dogs / S. Galac [et al.] // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2010. – № 1 (39). – P. 63–75.

66. García-Iglesias, B. B. Sensitization of restraint-induced corticosterone secretion after chronic restraint in rats: Involvement of 5-HT₇ receptors / B. B. García-Iglesias [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2013. – № 71. – P. 216–227.

67. Gatta-Cherifi, B. Adrenal involvement in MEN1. Analysis of 715 cases from the Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines database / B. Gatta-Cherifi [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2012. – № 2 (166). – P. 269–279.

68. Gaujoux, S. Inactivation of the APC gene is constant in adrenocortical tumors from patients with familial adenomatous polyposis but not frequent in sporadic adrenocortical cancers / S. Gaujoux [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2010. – № 21 (16). – P. 5133–5141.

69. Ghorayeb, N. El. Multiple aberrant hormone receptors in Cushing's syndrome / N. El Ghorayeb, I. Bourdeau, A. Lacroix // *European Journal of Endocrinology*. – 2015. – № 4 (173). – P. M45–M60.

70. Giraud, S. A large multiple endocrine neoplasia type 1 family with clinical expression suggestive of anticipation / S. Giraud [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1997. – № 10 (82). – P. 3487–3492.

71. Gorrigan, R. J. Localisation of the melanocortin-2-receptor and its accessory proteins in the developing and adult adrenal gland / R. J. Gorrigan [et al.] // *Journal of Molecular Endocrinology*. – 2011. – № 3 (46). – P. 227–232.

72. Grazzini, E. Vasopressin receptors in human adrenal medulla and pheochromocytoma / E. Grazzini [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1999. – № 6 (84). – P. 2195–2203.

73. Groot, J. W. B. De. Aberrant expression of multiple hormone receptors in ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome / J. W. B. De Groot [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2010. – № 2 (163). – P. 293–299.

74. Groussin, L. The ectopic expression of the gastric inhibitory polypeptide receptor is frequent in adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia, but rare in unilateral tumors / L. Groussin [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2002. – № 5 (87).

– P. 1980–1985.

75. Gu, Y. L. Bilateral adrenocortical adenomas causing adrenocorticotrophic hormone-independent Cushing's syndrome: A case report and review of the literature / Y. L. Gu [et al.] // *World Journal of Clinical Cases*. – 2019. – № 8 (7). – P. 961–971.

76. Guerin, C. Bilateral adrenalectomy in the 21st century: When to use it for hypercortisolism? / C. Guerin [et al.] // *Endocrine-Related Cancer*. – 2016. – № 2 (23). – P. R131–R142.

77. Hakami, O. A. Epidemiology and mortality of Cushing's syndrome / O. A. Hakami, S. Ahmed, N. Karavitaki // *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2021. – № 1 (35). – P. 101521.

78. Hannah-Shmouni, F. Successful Treatment of Estrogen Excess in Primary Bilateral Macronodular Adrenocortical Hyperplasia with Leuprolide Acetate / F. Hannah-Shmouni [et al.] // *Hormone and Metabolic Research*. – 2018. – № 2 (50). – P. 124–132.

79. He, X. Glucocorticoid Withdrawal Syndrome following treatment of endogenous Cushing Syndrome / X. He, J. W. Findling, R. J. Auchus // *Pituitary*. – 2022. – № 3 (25). – P. 393–403.

80. Hirata, Y. Presence of ectopic β -adrenergic receptors on human adrenocortical cortisol-producing adenomas / Y. Hirata [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1981. – № 5 (53). – P. 953–957.

81. Hochberg, Z. Endocrine withdrawal syndromes / Z. Hochberg, K. Pacak, G. P. Chrousos // *Endocrine Reviews*. – 2003. – № 4 (24). – P. 523–538.

82. Hofland, J. ACTH-independent macronodular adrenocortical hyperplasia reveals prevalent aberrant in vivo and in vitro responses to hormonal stimuli and coupling of arginine-vasopressin type 1a receptor to 11 β -hydroxylase / J. Hofland [et al.] // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2013. – № 1 (8). – P. 1–12.

83. Hsiao, H. P. Clinical and genetic heterogeneity, overlap with other tumor syndromes, and atypical glucocorticoid hormone secretion in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia compared with other adrenocortical tumors / H. P. Hsiao [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2009. – № 8 (94). – P. 2930–2937.

84. Hu, Y. *Armc5* deletion causes developmental defects and compromises T-cell immune responses / Y. Hu [et al.] // *Nature Communications*. – 2017. – № 8. – P. 1–16.

85. Hurtado, M. D. Extensive Clinical Experience: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Recovery after Adrenalectomy for CorticotropinIndependent Cortisol Excess / M. D. Hurtado, T. Cortes, N. Natt [et al.] // *Clin. Endocrinol (Oxf.)*. – 2018. – № 6 (89). – P. 721–733.

86. Iacobone, M. The role of unilateral adrenalectomy in ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia (AIMAH) / M. Iacobone [et al.] // *World Journal of Surgery*. – 2008. – № 5 (32). – P. 882–889.

87. Isaeva, A. V. β -catenin: Structure, function and role in malignant transformation of epithelial cells / A. V. Isaeva [et al.] // Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. – 2015. – № 4 (70). – P. 475–483.
88. Jefcoate, C. R. ACTH regulation of cholesterol movement in isolated adrenal cells / C. R. Jefcoate [et al.] // Journal of Steroid Biochemistry. – 1987. – № 4–6 (27). – P. 721–729.
89. Johansen, L. Hepatic Lesions Associated With McCune Albright Syndrome / L. Johansen [et al.] // Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2019. – № 4 (68). – P. e54–e57.
90. John, M. E. Transcriptional regulation of steroid hydroxylase genes by corticotropin / M. E. John [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1986. – № 13 (83). – P. 4715–4719.
91. Kamilaris, C. D. C. Adrenocortical tumorigenesis: Lessons from genetics / C. D. C. Kamilaris, F. Hannah-Shmouni, C. A. Stratakis // Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2020. – № 3 (34). – P. 101428.
92. Kamilaris, C. D. C. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): An update and the significance of early genetic and clinical diagnosis / C. D. C. Kamilaris, C. A. Stratakis // Frontiers in Endocrinology. – 2019. – № 10. – P. 1–15.
93. Karapanou, O. Adrenocorticotrophic hormone independent macronodular adrenal hyperplasia due to aberrant receptor expression: Is medical treatment always an option? / O. Karapanou [et al.] // Endocrine Practice. – 2013. – № 3 (19). – P. 45–47.
94. Kato, H. Multiple endocrine neoplasia type 1 associated with spinal ependymoma / H. Kato [et al.] // Internal Medicine. – 1996. – № 4 (35). – P. 285–289.
95. Katz, M. S. Ectopic β -Adrenergic Receptors Coupled to Adenylate Cyclase in Human Adrenocortical Carcinomas / M. S. Katz [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 1985. – № 5 (60). – P. 900–909.
96. Suda, K. Cardiac Myxoma Caused by Fumarate Hydratase Gene Deletion in Patient With Cortisol-Secreting Adrenocortical Adenoma / K. Suda, H. Fukuoka, Y. Yamazaki [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2020. – № 6 (105). – P. 1–19.
97. Kero, J. Elevated luteinizing hormone induces expression of its receptor and promotes steroidogenesis in the adrenal cortex / J. Kero [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2000. – № 5 (105). – P. 633–641.
98. Kloos, R. T. Incidentally discovered adrenal masses / R. T. Kloos [et al.] // Endocrine Reviews. – 1995. – № 4 (16). – P. 460–484.
99. Korol, P. Immunohistochemical demonstration of LH/CG receptors in non-neoplastic human adrenal cortex and adrenocortical tumors / P. Korol, M. Jaranowska, M. Pawlikowski // Folia Histochemica et Cytobiologica. – 2019. – № 1 (57). – P. 23–27.

100. Kosti, O. Tumour-derived human adrenocortical cells express β -adrenergic receptors: Steroidogenic effects of β -adrenergic input / O. Kosti, P. J. King, J. P. T. Hinson // *Endocrine Research*. – 2002. – № 4 (28). – P. 363–367.
101. Kramer, R. E. Induction of synthesis of mitochondrial steroidogenic enzymes of bovine adrenocortical cells by analogs of cyclic AMP / R. E. Kramer [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1984. – № 2 (259). – P. 707–713.
102. Lacroix, A. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol hypersecretion – a new cause of Cushing's syndrome / A. Lacroix, E. Bolté, J. Tremblay [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1992. – № 14 (327). – P. 974–980.
103. Lacroix, A. Gastric inhibitory polypeptidedependent cortisol hypersecretion – A new cause of Cushing's syndrome / A. Lacroix, E. Bolte, J. Tremblay, J. P. Dupre // *N. Engl. J. Med.* – 1992. – № 14 (327). – P. 976–980.
104. Lacroix, A. Leuprolide acetate therapy in luteinizing hormone – dependent Cushing's syndrome / A. Lacroix, P. Hamet, J. M. Boutin // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – № 21 (341). – P. 1577–1581.
105. Lacroix, A. Abnormal adrenal and vascular responses to vasopressin mediated by a V1-vasopressin receptor in a patient with adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia, Cushing's syndrome, and orthostatic hypotension / A. Lacroix [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1997. – № 8 (82). – P. 2414–2422.
106. Lacroix, A. Ectopic and abnormal hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome: Clinical consequences / A. Lacroix // *Endocrine reviews*. – 2001. – № 1 (22). – P. 75–110.
107. Lacroix, A. ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia / A. Lacroix // *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2009. – № 2 (23). – P. 245–259.
108. Lacroix, A. Aberrant G-protein coupled receptor expression in relation to adrenocortical overfunction / A. Lacroix [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2010. – № 1 (73). – P. 1–15.
109. Lagumdzija, A. Arg-vasopressin increases proliferation of human osteoblast-like cells and decreases production of interleukin-6 and macrophage colony-stimulating factor / A. Lagumdzija [et al.] // *Regulatory Peptides*. – 2004. – № 1–3 (121). – P. 41–48.
110. Lamas, C. Is unilateral adrenalectomy an alternative treatment for ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia?: Long-term follow-up of four cases / C. Lamas [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2002. – № 2 (146). – P. 237–240.
111. Lampron, A. Regulation of aldosterone secretion by several aberrant receptors including for glucose-dependent insulintropic peptide in a patient with an aldosteronoma / A. Lampron [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2009. – № 3 (94). – P. 750–756.
112. Larose, S. Coexistence of Myelolipoma and Primary Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia With GIP-Dependent Cushing's Syndrome / S. Larose [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2019. –

№ 10. – P. 1–9.

113. Lebrethon, M. C. Food-dependent Cushing's syndrome: Characterization and functional role of gastric inhibitory polypeptide receptor in the adrenals of three patients / M. C. Lebrethon [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1998. – № 12 (83). – P. 4514–4519.

114. Lecoq, A. Adrenal GIPR expression and chromosome 19q13 microduplications in GIP-dependent Cushing's syndrome / A. Lecoq [et al.] // *JCL Insight*. – 2017. – № 2 (18). – P. e92184.

115. Lee, S. Ectopic expression of vasopressin V1b and V2 receptors in the adrenal glands of familial ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia / S. Lee [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2005. – № 6 (63). – P. 625–630.

116. Lefebvre, H. Intraadrenal adrenocorticotropin production in a case of bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome / H. Lefebvre [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – № 7 (88). – P. 3035–3042.

117. Lefebvre, H. Cell-to-cell communication in bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing hypercortisolism / H. Lefebvre [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2015. – № 6. – P. 11–13.

118. Lefebvre, H. Paracrine control of steroidogenesis by serotonin in adrenocortical neoplasms / H. Lefebvre [et al.] // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2015. – № 408. – P. 198–204.

119. Lefebvre, H. Role of ACTH in the interactive/paracrine regulation of adrenal steroid secretion in physiological and pathophysiological conditions / H. Lefebvre. [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2016. – № 7.

120. Lehtonen, H. J. Increased risk of cancer in patients with fumarate hydratase germline mutation / H. J. Lehtonen [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. – 2006. – № 6 (43). – P. 523–526.

121. Lemmens, I. Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. The European Consortium on MEN1 / I. Lemmens // *Human Molecular Genetics*. – 1997. – № 6 (7). – P. 1177–1183.

122. Lenglet, S. Activation of 5-HT₇ receptor in rat glomerulosa cells is associated with an increase in adenylyl cyclase activity and calcium influx through T-type calcium channels / S. Lenglet [et al.] // *Endocrinology*. – 2002. – № 5 (143). – P. 1748–1760.

123. Li, J. Diagnosis and treatment of adrenocorticotrophic hormone-independent macronodular adrenocortical hyperplasia: A report of 23 cases in a single center / J. Li, C. H. Yang // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2015. – № 2 (9). – P. 507–512.

124. Libé, R. Phosphodiesterase 11A (PDE11A) and genetic predisposition to adrenocortical tumors / R. Libé [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2008. – № 12 (14). – P. 4016–4024.

125. Libé, R. Aberrant cortisol regulations in bilateral macronodular adrenal hyperplasia: A frequent finding in a prospective study of 32 patients with overt or subclinical Cushing's syndrome / R. Libé [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2010. – № 1 (163). – P. 129–138.

126. Lindholm, J. Incidence and late prognosis of Cushing's syndrome: A population-based study /

- J. Lindholm [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2001. – № 1 (86). – P. 117–123.
127. Louiset, E. Expression of serotonin₇ receptor and coupling of ectopic receptors to protein kinase A and ionic currents in adrenocorticotropin- independent macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome / E. Louiset [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2006. – № 11 (91). – P. 4578–4586.
128. Louiset, E. Expression of vasopressin receptors in ACTH-independent macronodular bilateral adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome: Molecular, immunohistochemical and pharmacological correlates / E. Louiset [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2008. – № 1 (196). – P. 1–9.
129. Louiset, E. Intraadrenal corticotropin in bilateral macronodular adrenal hyperplasia / E. Louiset [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – № 22 (369). – P. 2115–2125.
130. Mannelli, M. Cushing's Syndrome in a Patient with Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia Responding to Cisapride: An in Vivo and in Vitro Study / M. Mannelli [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – № 10 (88). – P. 4616–4622.
131. Mantero, F. A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study Group on Adrenal Tumors of the Italian Society of Endocrinology / F. Mantero [et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2000. – № 2 (85). – P. 637–644.
132. Lemos, M. C. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene / M. C. Lemos, R. V. Thakker // *Hum. Mutation*. – 2008. – № 1 (29). – P. 22–32.
133. Matkar, S. A scaffold protein that controls gene expression and cell signaling / S. Matkar, A. Thiel, X. Hua // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2013. – № 8 (38). – P. 394–402.
134. Matyakhina, L. Hereditary leiomyomatosis associated with bilateral, massive, macronodular adrenocortical disease and atypical cushing syndrome: A clinical and molecular genetic investigation / L. Matyakhina [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2005. – № 6 (90). – P. 3773–3779.
135. Mazzocchi, G. Gastric inhibitory polypeptide stimulates glucocorticoid secretion in rats, acting through specific receptors coupled with the adenylate cyclase-dependent signaling pathway / G. Mazzocchi [et al.] // *Peptides*. – 1999. – № 5 (20). – P. 589–594.
136. Mazzuco, T. L. Aberrant expression of human luteinizing hormone receptor by adrenocortical cells is sufficient to provoke both hyperplasia and cushing's syndrome features / T. L. Mazzuco [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2006. – № 1 (91). – P. 196–203.
137. Mazzuco, T. L. Cellular and molecular abnormalities of a macronodular adrenal hyperplasia causing beta-blocker-sensitive Cushing's syndrome / T. L. Mazzuco [et al.] // *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. – 2007. – № 9 (51). – P. 1452–1462.

138. McCarthy, C. J. Adrenal Imaging: Magnetic Resonance Imaging and Computed Tomography / C. J. McCarthy, S. McDermott, M. A. Blake // *Frontiers of Hormone Research*. – 2016. – № 45. – P. 55–69.
139. McKeeby, J. L. Multiple leiomyomas of the esophagus, lung, and uterus in multiple endocrine neoplasia type 1 / J. L. McKeeby [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 2001. – № 3 (159). – P. 1121–1127.
140. Messidoro, C. Food-dependent Cushing's syndrome / C. Messidoro [et al.] // *Netherlands Journal of Medicine*. – 2009. – № 5 (67). – P. 187–190.
141. Mete, O. The many faces of primary aldosteronism and cushing syndrome: A reflection of adrenocortical tumor heterogeneity / O. Mete, K. Duan // *Frontiers in Medicine*. – 2018. – № 5. – P. 1–12.
142. Mete, O. The many faces of primary aldosteronism and cushing syndrome: A reflection of adrenocortical tumor heterogeneity / O. Mete, K. Duan // *Frontiers in Medicine*. – 2018. – № 5. – P. 1–12.
143. Metherell, L. A. Mutations in MRAP, encoding a new interacting partner of the ACTH receptor, cause familial glucocorticoid deficiency type 2 / L. A. Metherell [et al.] // *Nature Genetics*. – 2005. – № 2 (37). – P. 166–170.
144. Mikolajczyk, H. Histologic changes in the adrenal cortex of hypophysectomized-gonadectomized rats treated with gonadotrophins or adrenocorticotrophin / H. Mikolajczyk, T. Pawlikowski // *Endokrynologia Polska*. – 1965.
145. Mircescu, H. Are ectopic or abnormal membrane hormone receptors frequently present in adrenal Cushing's syndrome? / H. Mircescu [et al.] // *J. Clin.Endocrinol.Metab.* – 2015. – № 10 (85). – P. 3531–3536.
146. Miyamura, N. Inherited adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia with abnormal cortisol secretion by vasopressin and catecholamines: Detection of the aberrant hormone receptors on adrenal gland / N. Miyamura [et al.] // *Endocrine*. – 2002. – № 3 (19). – P. 319–325.
147. Morelli, V. Subclinical hypercortisolism: Correlation between biochemical diagnostic criteria and clinical aspects / V. Morelli [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2010. – № 73. – P. 161–166.
148. Morelli, V. Bilateral and unilateral adrenal incidentalomas: biochemical and clinical characteristics. / V Morelli. [et al.] // *European journal of endocrinology* / *European Federation of Endocrine Societies*. – 2013. – № 2 (168). – P. 235–241.
149. Moura, E. A 2-Adrenoceptor Subtypes Involved in the Regulation of Catecholamine Release From the Adrenal Medulla of Mice / E. Moura. [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2006. – № 8 (149). – P. 1049–1058.
150. Mune, T. Eutopic overexpression of vasopressin V1a receptor in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia / T. Mune [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2002. – № 12 (87). – P. 5706–5713.
151. Munemitsu, S. Regulation of intracellular β -catenin levels by the adenomatous polyposis coli

- (APC) tumor-suppressor protein / S. Munemitsu [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995. – № 7 (92). – P. 3046–3050.
152. N'Diaye, N. Adrenocortical overexpression of gastric inhibitory polypeptide receptor underlies food-dependent Cushing's syndrome / N. N'Diaye [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1998. – № 8 (83). – P. 2781–2785.
153. N'Diaye, N. Asynchronous development of bilateral nodular adrenal hyperplasia in gastric inhibitory polypeptide-dependent Cushing's syndrome / N. N'Diaye [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1999. – № 8 (84). – P. 2616–2622.
154. Nabi, J. Incidental Detection of Adrenal Myelolipoma: A Case Report and Review of Literature / J. Nabi [et al.] // *Case Reports in Urology*. – 2013. – № 2013. – P. 1–3.
155. Nieman, L. K. The diagnosis of Cushing's syndrome: An endocrine society clinical practice guideline / L. K. Nieman [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2008. – № 5 (93). – P. 1526–1540.
156. Nieman, L. K. Treatment of cushing's syndrome: An endocrine society clinical practice guideline L. K. Nieman [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – № 8 (100). – P. 2807–2831.
157. Ntali, G. Mortality in Cushing's syndrome: Systematic analysis of a large series with prolonged follow-up / G. Ntali [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2013. – № 5 (169). – P. 715–723.
158. Olsen, H. Subclinical hypercortisolism and CT appearance in adrenal incidentalomas: A multicenter study from Southern Sweden / H. Olsen [et al.] // *Endocrine*. – 2012. – № 1 (42). – P. 164–173.
159. Olsen, H. Suppressed ACTH Is Frequently Unrelated to Autonomous Cortisol Secretion in Patients with Adrenal Incidentalomas / H. Olsen [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2018. – № 2 (104). – P. 506–512.
160. Ooi, A. Advances in hereditary leiomyomatosis and renal cell carcinoma (HLRCC) research / A. Ooi // *Seminars in Cancer Biology*. – 2020. – № 61. – P. 158–166.
161. Osswald, A. Long-Term Outcome of Primary Bilateral Macronodular Adrenocortical Hyperplasia after Unilateral Adrenalectomy / A. Osswald [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2019. – № 7 (104). – P. 2985–2993.
162. Pabon, J. E. Novel presence of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors in human adrenal glands / J. E. Pabon [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1996. – № 6 (81). – P. 2397–2400.
163. Pack, S. Cutaneous tumors in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 show allelic deletion of the MEN1 gene / S. Pack [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1998. – № 4 (110). – P. 438–440.
164. Paschou, S. A. Subclinical Cushing's syndrome in patients with bilateral compared to unilateral

- adrenal incidentalomas: a systematic review and meta-analysis / S. A. Paschou [et al.] // *Endocrine*. – 2016. – № 2 (51). – P. 225–235.
165. Payne, A. H. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones / A. H., Payne D. B. Hales // *Endocrine Reviews*. – 2004. – № 6 (25). – P. 947–970.
166. Penezić, Z. Value of assessing adrenocorticotrophic hormone (ACTH) levels in differential diagnosis of hypercorticism. / Z. Penezić [et al.] // *Medicinski preglod*. – 2004. – № 7 (57). – P. 335–342.
167. Perogamvros, I. Serum regulates cortisol bioactivity by corticosteroid-binding globulin-dependent and independent mechanisms, as revealed by combined bioassay and physicochemical assay approaches / I. Perogamvros [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2011. – № 1 (75). – P. 31–38.
168. Plöckinger, U. Functional implications of LH/hCG receptors in pregnancy-induced cushing syndrome / U Plöckinger. [et al.] // *Journal of the Endocrine Society*. – 2017. – № 1 (1). – P. 57–71.
169. Plotz, C. M. The natural history of cushing's syndrome / C. M. Plotz, A. I. Knowlton, C. Ragan // *The American Journal of Medicine*. 1952. – № 5 (13). – P. 597–614.
170. Preumont, V. Transient efficacy of octreotide and pasireotide (SOM230) treatment in GIP-dependent cushing's syndrome / V. Preumont [et al.] // *Hormone and Metabolic Research*. – 2011. – № 4 (43). – P. 287–291.
171. Regazzo, D. The pathogenic role of the GIP/GIPR axis in human endocrine tumors: emerging clinical mechanisms beyond diabetes / D. Regazzo [et al.] // *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. – 2020.
172. Reznik, Y. Food-dependent Cushing's syndrome mediated by aberrant adrenal sensitivity to gastric inhibitory polypeptide / Y. Reznik, V Allali-Zerah, J. A. Chayvialle [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 1992. – № 14 (327). – P. 981–986.
173. Reznik, Y. Aberrant adrenal sensitivity to multiple ligands in unilateral incidentaloma with subclinical autonomous cortisol hypersecretion: A prospective clinical study / Y. Reznik [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2004. – № 3 (61). – P. 311–319.
174. Ricciato, M. P. The role of adrenal scintigraphy in the diagnosis of subclinical cushing's syndrome and the prediction of post-surgical hypoadrenalism / M. P. Ricciato [et al.] // *World Journal of Surgery*. – 2014. – № 6 (38). – P. 1328–1335.
175. Rilianawati. Direct luteinizing hormone action triggers adrenocortical tumorigenesis in castrated mice transgenic for the murine inhibin α -subunit promoter/simian virus 40 t-antigen fusion gene / Rilianawati [et al.] // *Molecular Endocrinology*. – 1998. – № 6 (12). – P. 801–809.
176. Roels, H. The effect and adrenal of some cortex pituitary in hormones nuclei on of volume content of cell hypophysectomized- castrated / H. Roels // *Experimental Cell Research*. 1963. (31). – P. 407–415.
177. Rothenbuhler, A. Identification of novel genetic variants in phosphodiesterase 8B (PDE8B), a

- cAMP-specific phosphodiesterase highly expressed in the adrenal cortex, in a cohort of patients with adrenal tumours / A. Rothenbuhler [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2012. – № 2 (77). – P. 195–199.
178. Rubello, D. Functional scintigraphy of the adrenal gland / D. Rubello [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2002. – № 1 (147). – P. 13–28.
179. Rubinstein, G. The role of adrenal venous sampling (AVS) in primary bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia (PBMAH): a study of 16 patients / G. Rubinstein [et al.] // *Endocrine*. – 2022. – № 2 (76). – P. 434–445.
180. Sarkar, S. D. A new and superior adrenal imaging agent, ^{131}I -6 β -iodomethyl- 19-nor-cholesterol (NP-59): Evaluation in humans / S. D. Sarkar [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1977. – № 2 (45). – P. 353–362.
181. Saroj, N. Effect of chronic corticosterone treatment on expression and distribution of serotonin 5-HT₇ receptors in rat adrenal glands / N. Saroj [et al.] // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2019. – № 10 (97). – P. 924–931.
182. Schorr, I. Multiple specific hormone receptors in the adenylate cyclase of an adrenocortical carcinoma / I. Schorr [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1971. – № 18 (246). – P. 5806–5811.
183. Schorr, I. Abnormal hormone responses of an adrenocortical cancer adenyl cyclase / I. Schorr, R. L. Ney // *The Journal of clinical investigation*. – 1971. – № 6 (50). – P. 1295–1300.
184. Schüle, C. Neuroendocrinological mechanisms of actions of antidepressant drugs / C. Schüle // *Journal of Neuroendocrinology*. – 2007. – № 3 (19). – P. 213–226.
185. Sheikh-Ahmad, M. Unilateral Adrenalectomy for Primary Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia: Analysis of 71 Cases / M. Sheikh-Ahmad [et al.] // *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. – 2019. – № 12 (128). – P. 827–834.
186. Sherlock, M. Adrenal Incidentaloma / M. Sherlock, A. Scarsbrook, A. Abbas [et al.] // *Endocrine Reviews*. – 2020. – № 6 (41). – P. 775–820.
187. Shiroky, J. S. Characteristics of adrenal masses in familial adenomatous polyposis / J. S. Shiroky [et al.] // *Diseases of the Colon and Rectum*. – 2018. – № 6 (61). – P. 679–685.
188. Shoemaker, N. J. Correlation between age at neutering and age at onset of hyperadrenocorticism in ferrets / N. J. Shoemaker [et al.] // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 2000 Jan 15. – № 2 (216). – P. 195–197.
189. Shuch, B. Adrenal nodular hyperplasia in hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer / B. Shuch [et al.] // *Journal of Urology*. – 2013. – № 2 (189). – P. 430–435.
190. Silva, E. S. Demonstration of McCune-Albright mutations in the liver of children with high γ GT progressive cholestasis / E. S. Silva [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2000. – № 1 (32). – P. 154–158.
191. Smit, D. L. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families referred for fumarate hydratase germline mutation analysis / D. L. Smit [et al.] // *Clinical Genetics*. – 2011. – № 1 (79). – P. 49–59.

192. Spagnolo, E. V. Post-mortem immunohistochemical evidence of β 2-adrenergic receptor expression in the adrenal gland / E. V. Spagnolo [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – № 12 (20). – P. 1–12.
193. Stratakis, C. A. Molecular mechanisms of ARMC5 mutations in adrenal pathophysiology / C. A. Stratakis, A. Berthon // *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. – 2019. – № 8. – P. 104–111.
194. Suzuki, S. Hyper-responsiveness of adrenal gland to vasopressin resulting in enhanced plasma cortisol in patients with adrenal nodule(s) / S. Suzuki [et al.] // *Peptides*. – 2008. – № 10 (29). – P. 1767–1772.
195. Suzuki, S. Germline Deletion of Armc5 in Familial Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia / Suzuki [et al.] // *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*. – 2015. – № 10 (21). – P. 1152–1160.
196. Swords, F. M. Impaired desensitization of a mutant adrenocorticotropin receptor associated with apparent constitutive activity / F. M. Swords [et al.] // *Molecular Endocrinology*. – 2002. – № 12 (16). – P. 2746–2753.
197. Swords, F. M. Constitutive activation of the human ACTH receptor resulting from a synergistic interaction between two naturally occurring missense mutations in the MC2R gene / F. M. Swords [et al.] // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2004. – № 2 (213). – P. 149–154.
198. Usdin, T. B. Gastric inhibitory polypeptide receptor, a member of the secretin-vasoactive intestinal peptide receptor family, is widely distributed in peripheral organs and the brain / T. B. Usdin, E. Mezey, D. C. Button [et al.] // *Endocrinology*. 1993. – № 6 (133). – P. 2861–2870.
199. Tadjine, M. Frequent mutations of β -catenin gene in sporadic secreting adrenocortical adenomas / M. Tadjine [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2008. – № 2 (68). – P. 264–270.
200. Tauchmanová, L. Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk / L. Tauchmanová [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2002. – № 11 (87). – P. 4872–4878.
201. Terzolo, M. Cushing's syndrome due to ACTH-independent bilateral adrenocortical macronodular hyperplasia / M. Terzolo [et al.] // *Journal of Endocrinological Investigation*. 1997. – № 5 (20). – P. 270–275.
202. Terzolo, M. Subclinical Cushing's syndrome / M. Terzolo [et al.] // *Pituitary*. – 2004. – № 4 (7). – P. 217–223.
203. Terzolo, M. Midnight serum cortisol as a marker of increased cardiovascular risk in patients with a clinically inapparent adrenal adenoma / M. Terzolo [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2005. – № 2 (153). – P. 307–315.
204. Terzolo, M. AME position statement on adrenal incidentaloma / M. Terzolo [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2011. – № 6 (164). – P. 851–870.

205. Terzolo, M. Subclinical Cushing's syndrome: Definition and management / M. Terzolo, A. Pia, G. Reimondo // *Clinical Endocrinology*. – 2012. – № 1 (76). – P. 12–18.
206. Trejter, M. Arginin-vasopressin regulates proliferative activity of the regenerating rat adrenal cortex. / M. Trejter [et al.] // *International journal of molecular medicine*. – 2005. – № 6 (15). – P. 993–997.
207. Tufano, M. Auxological and Endocrinological Features in Children With McCune Albright Syndrome: A Review / M. Tufano [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2020. – № August (11). – P. 8–11.
208. Ueland, G. Adrenal venous sampling for assessment of autonomous cortisol secretion / G. Ueland [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2018. – № 12 (103). – P. 4553–4560.
209. Vassiliadi, D. A. High prevalence of subclinical hypercortisolism in patients with bilateral adrenal incidentalomas: A challenge to management / D. A. Vassiliadi [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2011. – № 4 (74). – P. 438–444.
210. Vassiliadi, D. A. Diagnosis and management of primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia / D. A. Vassiliadi, S. Tsagarakis // *Endocrine-Related Cancer*. – 2019. – № 10 (26). – P. R567–R581.
211. Vélayoudom-Céphise, F. L. Etiopathogeny of primary adrenal hypercortisolism / F. L. Vélayoudom-Céphise, M. Haissaguerre, A. Tabarin // *Frontiers of Hormone Research*. – 2016. – № 46. – P. 39–53.
212. Vezzosi, D. Familial adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia with aberrant serotonin and vasopressin adrenal receptors / D. Vezzosi [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2007. – № 1 (156). – P. 21–31.
213. Vezzosi, D. Phosphodiesterase 11A (PDE11A) gene defects in patients with ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia (AIMAH): Functional variants may contribute to genetic susceptibility of bilateral adrenal tumors / D. Vezzosi [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2012. – № 11 (97). – P. 2063–2069.
214. Vilsbøll, T. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus / T. Vilsbøll [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – № 6 (88). – P. 2706–2713.
215. Vitellius, G. Significant prevalence of NR3C1 mutations in incidentally discovered bilateral adrenal hyperplasia: results of the French MUTA-GR Study / G. Vitellius, S. Trabado, C. Hoeffel [et al.] // *Eur. J. Endocrinol* – 2018. – № 4 (178). – P. 411–423.
216. Wada, N. Adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia: Immunohistochemical studies of steroidogenic enzymes and post-operative course in two men / N. Wada [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. 1996. – № 5 (134). – P. 583–587.
217. Wagner, R. A. Leuprolide acetate treatment of adrenocortical disease in ferrets / R. A. Wagner [et al.] // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 2001. – № 8 (218). – P. 1272–1274.

218. Wang, W. A 30-Year, Single-Center Experience of Unilateral Adrenalectomy for Primary Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia / W., Wang P. Lian, J. Deng [et al.] // *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*. – 2022. – № 7 (28). – P. 690–695.
219. Warda, M. H. A. Chemical-shift MRI versus washout CT for characterizing adrenal incidentalomas / M. H. A. Warda, S. M. Shehata, F Zaiton // *Clinical Imaging*. – 2016. – № 4 (40). – P. 780–787.
220. Waterman, R. B. L. Cytochromes P450 12: diversity of ACTH (cAMP)-dependent transcription of bovine steroid hydroxylase genes / R. B. L. Waterman // *FASEB J*. – 1997. – № 6 (11). – P. 419–427.
221. Weis, W. I. The Molecular Basis of G Protein-Coupled Receptor Activation / W. I. Weis, B. K. Kobilka // *Annual Review of Biochemistry*. – 2018. – № 87. – P. 897–919.
222. Wengander, S. [et al.]. The incidence of endogenous Cushing's syndrome in the modern era / S. Wengander [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2019. – № 2 (91). – P. 263–270.
223. Xu, Y. The Role of Unilateral Adrenalectomy in Corticotropin-Independent Bilateral Adrenocortical Hyperplasias / Y. Xu [et al.] // *World Journal of Surgery*. – 2013. – № 7 (37). – P. 1626–1632.
224. Yaneva, M. Mortality in Cushing's syndrome: Data from 386 patients from a single tertiary referral center / M. Yaneva, K. Kalinov, S. Zacharieva // *European Journal of Endocrinology*. – 2013. – № 5 (169). – P. 621–627.
225. Ye, P. G-protein-coupled receptors in aldosterone-producing adenomas: A potential cause of hyperaldosteronism / P. Ye [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2007. – № 1 (195). – P. 39–48.
226. Ye, P. Screening for membrane hormone receptor expression in primary aldosteronism / P. Ye [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. – 2009. – № 3 (160). – P. 443–451.
227. Yoshida, M. A case of ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia associated with multiple endocrine neoplasia type 1 / M. Yoshida [et al.] // *Endocrine Journal*. – 2011. – № 4 (58). – P. 269–277.
228. Young, W. F. The Incidentally Discovered Adrenal Mass / W. F. Young // *New England Journal of Medicine*. – 2007. – № 6 (356). – P. 601–610.
229. Young, W. F. The clinical conundrum of corticotropin-independent autonomous cortisol secretion in patients with bilateral adrenal masses / W. F. Young [et al.] // *World Journal of Surgery*. – 2008. – № 5 (32). – P. 856–862.
230. Yu, L. ARMC5 mutations in familial and sporadic primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia / L. Yu [et al.] // *PLoS ONE*. – 2018. – № 1 (13). – P. 1–16.
231. Zaman, S. Synacthen Stimulation Test Following Unilateral Adrenalectomy Needs to Be Interpreted With Caution / S. Zaman [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2021. – № 5 (12). – P. 1–7.
232. Zhang, Q. Analysis of clinical and pathological features of primary bilateral macronodular

- adrenocortical hyperplasia compared with unilateral cortisol-secreting adrenal adenoma / Q. Zhang [et al.] // *Annals of Translational Medicine*. – 2020. – № 18 (8). – P. 1173–1173.
233. Zhou, L. Primary adrenal lymphoma: Radiological; Pathological, clinical correlation / L. Zhou [et al.] // *European Journal of Radiology*. – 2012. – № 3 (81). – P. 401–405.
234. Zilbermint, M. Primary aldosteronism and ARMC5 variants / M. Zilbermint [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – № 6 (100). – P. E900–E909.
235. Бахтюков, А. А. Исследование биологической активности и молекулярных механизмов действия низкомолекулярных агонистов рецептора лютеинизирующего гормона на основе тиенопиримидиновых производных : дис. канд. ... мед. наук : 03.01.04 / Бахтюков Андрей Андреевич. – Москва, 2020. –134 с.
236. Юкина, М. Ю. Макронодулярная двусторонняя гиперплазия надпочечников : диагностика aberrантных рецепторов и современные аспекты лечения / М. Ю. Юкина [и др.] // *Consilium Medicum*. – 2016. – № 10 (18). – P. 29–33.