ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭНДОКРИНОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЯНАР ЭДА АЛЬПЕРОВНА

«Эндогенный гиперкортицизм у детей: спектр стероидов, молекулярная генетика и топическая диагностика в персонализации лечения»

3.1.19 - ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

ДИССЕРТАЦИЯ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: д.м.н., профессор, академик РАН Петеркова В.А.

Москва – 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 12

1.1 Этиология и патогенез гиперкортицизма 12

1.2 Клинические проявления гиперкортицизма 13

1.3 Диагностика гиперкортицизма 14

1.4 Лечение эндогенного гиперкортицизма 16

1.5 Генетические особенности 17

1.5.1. Генетические особенности при синдроме АКТГ-зависимом и АКТГ-независимом гиперкортицизме 17

1.5.2 Генетические особенности при синдроме АКТГ-зависимого гиперкортицизма 22

1.5.3 Генетические особенности при синдроме АКТГ-независимого гиперкортицизма 29

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 33

2.1 Дизайн исследования 33

2.1.1 Критерии соответствия 33

2.1.2 Клиническое обследование пациентов 38

2.1.3 Анализ полученных результатов. 38

2.2. Методы исследования 38

2.2.1 Лабораторные методы исследования 39

2.2.2 Инструментальные методы исследования 40

2.2.3 Методы лечения 43

2.2.4 Иммуногистохимическое исследование 44

2.2.5. Молекулярно-генетическое исследование 44

2.3 Статистический анализ 48

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 49

3.1. Группа пациентов с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом 49

3.1.1. Клиническая характеристика 49

3.1.2. Результаты лабораторных методов исследования 49

3.1.3. Результаты инструментальных методов исследования 50

3.1.4 Селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином 51
3.1.5. Результаты лечения 52
3.1.6. Эндокринные осложнения лечения (гипопитуитаризм) 63
3.2. Группа пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом 65
3.2.1. Клиническая характеристика 65
3.2.2. Результаты лабораторных методов исследования 66
3.2.3. Результаты инструментальных методов исследования 68
3.2.4. Радикальное лечение 69
3.2.5. Результаты морфологического исследования 69
3.3. Особенности мультистероидного профиля пациентов с эндогенным гиперкортицизмом 72
3.4. Молекулярно-генетическое исследование 89
3.4.1. АКТГ-зависимый гиперкортицизм 89
3.4.2. АКТГ-независимый гиперкортицизм 97
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 103
4.1 Особенности клинико-инструментальных данных 103
4.2 Анализ особенностей течения и результаты лечения кортикотропином 104
4.3 Особенности мультистероидного профиля 107
4.4 Молекулярно-генетические особенности 110
4.4.1 АКТГ-зависимый гиперкортицизм 110
4.4.2 АКТГ-независимый гиперкортицизм 111
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 114
ВЫВОДЫ 117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 121

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Синдром эндогенного гиперкортицизма (синдром Иценко-Кушинга) – редкое мультисистемное заболевание, причиной которого является хроническая гиперпродукция кортизола. Генез гиперкортицизма может быть АКТГ-зависимым (АКТГ-продуцирующая аденома гипофиза (кортикотропинома) и АКТГ-эктопированный синдром) и АКТГ-независимым (продуцирующее кортизол образование надпочечника (кортикостерома). Первичная заболеваемость составляет 1-2.5 новых случаев на 1 миллион людей ежегодно, и из них всего 10% случаев приходится на детскую популяцию [1].

Низкая частота встречаемости эндогенного гиперкортицизма в детской популяции не позволяет проводить исследования на больших группах пациентов, что обусловливает сохраняющиеся трудности в диагностике и лечении данного заболевания.

У детей до 6 лет этиологической причиной гиперкортицизма чаще являются объемные образования надпочечников (аденомы, карциномы или различные варианты гиперплазии надпочечников), тогда как у детей старше 6 лет причиной гиперкортицизма чаще являются аденомы гипофиза (кортикотропиномы) [2]. Отличительной чертой гиперкортицизма в детском возрасте является высокая частота моногенных вариантов, в том числе приводящих к развитию разнообразных синдромов множественных эндокринных неоплазий [3]. Болезнь Иценко-Кушинга (БИК) может быть обусловлена как герминальными мутациями в генах *MEN1, AIP, DICER* и др [3], так и соматическими мутациями, поиск которых является предметом активного изучения последние 20 лет. По результатам последних исследований в единичных случаях выявляются соматические мутации в генах, участвующих в регуляции гипоталамо-гипофизарной-надпочечниковой оси, механизма обратно-отрицательной связи и клеточного цикла, нарушения в которых приводят к образованию кортикотропином. Наибольший интерес вызывают соматические мутации в гене *USP8 (*Ubiquitin-Specific Protease

8/убиквитин-специфическая протеаза 8*)*, частота встречаемости которых в кортикотропиномах варьирует от 30 до 60% случаев, среди взрослых пациентов [4]. Также, по результатам некоторых исследований, в кортикотропиномах, несущих мутацию в гене *USP8*, чаще выявляются рецепторы к соматостатину 5 типа, в связи с чем они могут отвечать на терапию препаратами аналогов соматостатина, что открывает новые перспективы таргетной терапии [5]. На настоящий момент сохраняется нехватка аналогичных крупных исследований среди пациентов детского возраста с анализом молекулярно-генетических особенностей и их влиянием на течение заболевания.

Гиперкортицизм надпочечникового генеза встречается при синдроме МакКьюн-Олбрайта-Брайцева (мутации в гене *GNAS*), Карни-комплексе (мутации в гене *PRKAR1A)* и других редких вариантах гиперплазии надпочечников и кортикостером (*PDE11A, PDE8B, APC, ARMC5*) [6].

Возможность наличия множественных эндокринных опухолей при эндогенном гиперкортицизме у детей и перспективы таргетной терапии делают понимание причин и механизмов развития кортизол-продуцирующих образований важным аспектом квалификации практикующих детских эндокринологов.

В связи с сохраняющимися трудностями в проведении дифференциальной диагностики эндогенного гиперкортицизма и прогнозирования течения заболевания, необходимо определение значимости имеющихся и поиск новых диагностических и прогностических маркеров. В течение последних лет наблюдаются попытки использования мультистероидного профиля для дифференциальной диагностики заболеваний надпочечников, в том числе и эндогенного гиперкортицизма у взрослых пациентов [7,8].

Быстрое развитие клинических технологий и новых методов диагностики ставят задачу совершенствования протоколов диагностики и ведения данного орфанного заболевания.

Цель исследования

Разработка персонализированного подхода к диагностике, лечению и наблюдению детей с синдромом эндогенного гиперкортицизма.

Задачи

1. Провести анализ клинических, лабораторно-инструментальных особенностей эндогенного гиперкортицизма у детей
2. Оценить значимость прогностических маркеров (визуализация аденомы и ее размер, развитие гипокортицизма в раннем послеоперационном периоде) в лечении кортикотропином у детей
3. Сравнить результаты методов лечения кортикотропином по частоте развития рецидивов заболевания и нарушения функции тропных гормонов гипофиза
4. Анализ молекулярных особенностей эндогенного гиперкортицизма, в том числе и поиск соматических мутаций у детей с кортикотропиномами для оценки особенностей течения заболевания
5. Провести исследование стероидных маркеров синдрома и болезни Иценко-Кушинга методом тандемной масс-спектрометрии

Научная новизна

Впервые в России на большой выборке пациентов проведено комплексное обследование детей с синдромом эндогенного гиперкортицизма различного генеза, определен спектр клинических проявлений синдрома Кушинга и частота встречаемости различных осложнений хронического гиперкортицизма в детской популяции.

Впервые в России на большой выборке детей с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом центрального генеза (кортикотропиномы) проведена оценка течения заболевания, результатов и осложнений проведенного лечения

и проведен анализ частоты развития рецидивов заболевания с оценкой значимости имеющихся прогностических маркеров.

Проведен анализ встречаемости эндогенного гиперкортицизма в составе наследственных синдромов и оценка течения АКТГ-зависимого и АКТГ-независимого гиперкортицизма как в спорадических случаях, так и в составе синдромов множественных эндокринных неоплазий.

Впервые в России проведен генетический анализ с применением современных молекулярно-генетических методов для поиска соматических мутаций в удаленных тканях кортиктропином у детей. Проведен анализ клинико-лабораторных характеристик аденом в зависимости от выявленных молекулярно-генетических особенностей.

Впервые в России проведена оценка масс-спектрометрических характеристик у детей с синдромом Кушинга для поиска новых дифференциально-диагностических маркеров.

Была определена практическая значимость этих маркеров в диагностике и прогнозирования течения эндогенного гиперкортицизма в детской популяции.

Практическая значимость

Невозможность формирования больших выборок пациентов обусловливает значимость каждых отдельных исследований, включая настоящее - все они вносят вклад в определение спектра всех возможных клинических проявлений и осложнений хронического гиперкортицизма у детей, результатов различных методов лечения с оценкой эффективности и выявленных осложнений после проведенного лечения.

Определена частота развития рецидивов кортикотропиномы и проведена оценка имеющихся в настоящее время прогностических маркеров, на основании чего сформулирован алгоритм динамического наблюдения после достижения ремиссии заболевания.

Проведена оценка частоты встречаемости АКТГ-зависимого и АКТГ-независимого гиперкортицизма в составе синдромов множественных

неоплазий, предложен протокол динамического наблюдения пациентов со скринингом возможных компонентов синдромов.

Полученные данные создают основу для разработки персонифицированного подхода к ведению пациентов с гиперкортицизмом различного генеза и открывают возможности для дальнейших исследований в этой области.

Основные положения, выносимые на защиту

Наиболее распространенными проявлениями хронического гиперкортицизма в изученной выборке пациентов являются прибавка массы тела и замедление темпов роста/задержка роста, что и является основной отличительной особенностью детской популяции. Малоспецифичность клинических проявлений гиперкортицизма обусловливает позднюю диагностику (более 2 лет с момента манифестации) с повышением вероятности развития осложнений заболевания, самым частым из которых является артериальная гипертензия (до 50-70% случаев), другие осложнения встречаются гораздо реже.

Особенностью детской популяции также является высокая частота отсутствия визуализации кортикотропином (до 40%) по результатам МРТ, микроаденомы выявлялись в 45% случаев, а макроаденомы - в 15%, ассоциации влияния размера аденомы на достижение ремиссии и длительность безрецидивного периода не выявлено.

На изучаемой выборке пациентов выявлена корреляция между развитием гипокортицизма в раннем послеоперационном периоде, считающимся на настоящий момент наиболее эффективным предиктором длительного безрецидивного течения, и более ранними сроками развития рецидива, что не позволяет однозначно использовать данный показатель в качестве предиктора длительного безрецидивного течения и обусловливает необходимость динамического наблюдения после проведенного радикального лечения.

Частота выявления герминальных мутаций у пациентов с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом не превышала 15%, кортикотропиномы встречались только в составе синдромов МЭН1 и DICER.

Полноэкзомное секвенирование, проведенное на ДНК, выделенной из цельной крови и удаленной ткани кортикотропином, позволила определить соматические мутации у 21% пациентов, выявлены мутации только в гене *USP8*. Различий в степени гормональной гиперсекреции не выявлено, отмечена тенденция к большим размерам кортикотропином у детей, имеющих мутацию в гене *USP8*.

Гиперкортицизм вследствие различных вариантов узелковой гиперплазии надпочечников в подавляющем большинстве случаев встречался в составе синдромов МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (у детей с манифестацией в первые годы жизни) и Карни-комплекса (у детей до 10 лет). Причем у всех пациентов с манифестацией АКТГ-независимого гиперкортицизма в первый год жизни, в дальнейшем отмечалось присоединение других компонентов заболевания и клинически был установлен диагноз синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

Выявленные особенности обусловливают необходимость генетического обследования пациентов детского возраста с эндогенным гиперкортицизмом и динамического обследования после достижения ремиссии с целью скрининга возможных компонентов синдромов множественных неоплазий и риска развития рецидива заболевания.

Степень достоверности

Достоверность изложенных в настоящем исследовании положений, выводов и рекомендаций подтверждаются тщательным анализом научно-исследовательских работ по синдрому эндогенного гиперкортицизма; согласованностью полученных результатов с известными отечественными и зарубежными данными; применением методов исследования с доказанной эффективностью; проведением экспериментальных методов согласно

стандартам и с современными средствами измерений; применением статистического анализа для обработки полученных данных.

Апробация полученных результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 18 октября 2022 года на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии Института высшего и дополнительного профессионального образования, научных сотрудников клинических и лабораторных подразделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России.

Результаты работы представлены в виде устных докладов на международных конгрессах: ESE Clinical Update on Cushing's Syndrome 2021 online; ESPE 2021 online; 60st ESPE Meeting 2022 (Rome, Italy); на всероссийских конгрессах: XIX Российском конгрессе "Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии" с международным участием (Москва, 2020); XVII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Инновационные Достижения науки в практику детского эндокринолога» (Санкт-Петербург, 2021); конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (г. Москва, 2021г.); конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Персонализированный подход в детской эндокринологии» (Москва, 2022).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 11 публикаций, из них статей в иностранных журналах – 2; в отечественных журналах – 9; включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций – 4.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 132 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, главы с обсуждением результатов и заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 14 рисунками. Список использованной литературы включает 160 источников: 13 отечественных и 147 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология и патогенез гиперкортицизма

Эндогенный гиперкортицизм – редкое мультисистемное заболевание, причиной которого является хроническая гиперпродукция гормона коры надпочечников - кортизола.

В нормальных условиях секреция кортизола регулируется гипоталамо-гипофизарной-надпочечниковой осью (ГГНО). Под воздействием кортикотропин-рилизинг гормона (КРГ) кортикотрофы аденогипофиза начинают секретировать адренокортикотропный гормон (АКТГ). В коре надпочечников АКТГ связывается с клетками с помощью меланокортинового рецептора 2 типа (MCR2), что способствует началу стероидогенеза, конечным продуктом которого является выработка глюкокортикоидов (Гк) [10]. Секреция АКТГ регулируется по принципу прямой связи под влиянием кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ) и отрицательной обратной связи под влиянием глюкокортикоидов.

Синдром эндогенного гиперкортицизма развивается в результате нарушений ГГНО вследствие гиперсекреции КРГ, АКТГ или кортизола новообразованиями различной локализации [2] и делится на 2 группы: АКТГ-зависимый гиперкортицизм (кортикотропинома или АКТГ-эктопированный синдром) и АКТГ-независимый гиперкортицизм (гиперкортицизм надпочечникового генеза).

Болезнь Иценко-Кушинга (БИК) развивается вследствие гиперсекреции АКТГ аденомой гипофиза (кортикотропиномой), которая обусловливает хроническую гиперсекрецию кортизола пучковой зоной коры надпочечников. Как в педиатрической, так и во взрослой практике кортикотропинома является самой частой причиной эндогенного гиперкортицизма, составляя 75-80% случаев [11]. У детей кортикотропиномы чаще встречаются в возрастной группе старше 6 лет [2].

Более редкой причиной эндогенного гиперкортицизма у детей является автономная гиперпродукция кортизола надпочечниками, выявляющаяся в 1/3 всех объемных образований надпочечников [2]. До 75-90% случаев выявляется одностороннее и доброкачественное поражение надпочечников (аденомы). Адренокортикальный рак (АКР) встречается не чаще, чем в 5% случаев всех объемных образований надпочечников, остальные случаи гиперкортицизма надпочечникового генеза связаны с вариантами гиперплазии надпочечников (микро- и макронодулярной гиперплазией надпочечников) [6]. АКТГ-эктопированный синдром встречается не более чем в 1% случаев эндогенного гиперкортицизма во взрослой популяции, и является еще более редкой находкой в детской [12]. Источниками АКТГ эктопии чаще всего являются карциноиды легких, поджелудочной железы или тимуса.

1.2 Клинические проявления гиперкортицизма

Начальные проявления хронического гиперкортицизма неспецифичные и медленно прогрессирующие, в связи с чем диагноз гиперкортицизма в большинстве случаев устанавливается через 1,5-2 года после появления первых клинических признаков заболевания. Самым частым и отличающим гиперкортицизм в педиатрической практике клиническим проявлением заболевания является замедление темпов роста. Другим наиболее частым проявлением заболевания является прогрессирующая прибавка массы тела с перераспределением подкожно-жировой клетчатки (ПЖК) по кушингоидному типу и появление стрий. Для детей младше 5-7 лет появление стрий не характерно [2]. У пациентов пубертатного возраста часто встречаются нарушения полового развития (задержка пубертата, признаки гиперандрогении, нарушения менструального цикла и др). Реже встречаются такие осложнения гиперкортицизма, как артериальная гипертензия, нарушения углеводного обмена и остеопения. Все клинические признаки, характерные для гиперкортицизма, приведены в табл 1.

Таблица 1. Клинические проявления гиперкортицизма у детей.

Антропометрические	остановка в росте, прогрессирующий набор массы тела, перераспределение ПЖК по кушингоидному типу
Кожные	матронизм, акне, акантоз, гирсутизм, выпадение волос, глубокие багровые стрии
Сердечно-сосудистая система	артериальная гипертензия, коагулопатии
Нервная система	головная боль
Половое развитие	задержка полового развития, аменорея, вирилизация, гинекомастия
Психологическиие	стероидный психоз, нарушение памяти
ЖКТ	гастрит, эрозии, язвы ЖКТ
Костная ткань	остеопороз
Другое	гипергликемия, гипокалиемия, нефролитиаз

1.3 Диагностика гиперкортицизма

Диагностический поиск при подозрении на синдром гиперкортицизма начинается с исключения ятрогенного генеза, после чего проводится контроль суточного ритма секреции АКТГ и кортизола (АКТГ и кортизол в 8-9:00 и 23-24:00), суточного анализа мочи на уровень кортизола с последующим проведением теста с дексаметазоном (ночной тест – 1 мг на ночь/малый тест с дексаметазоном – 30 мкг/кг, максимально 0.5 мг через каждые 6 часов = по 2 мг/сут в течение 48 часов, всего 4 мг) для подтверждения эндогенного

характера гиперкортицизма. Ни один из этих тестов не имеет 100% точности, для подтверждения диагноза эндогенного гиперкортицизма необходимо проведение всех тестов [13,14]. В настоящее время контроль уровня кортизола в вечерней слюне также является одним из диагностических тестов и может быть использован как один из критериев диагностики [15].

При подтверждении эндогенного характера гиперкортицизма, встает вопрос дифференциальной диагностики между АКТГ-зависимым и АКТГ-независимым гиперкортицизмом. При выявлении уровня АКТГ плазмы крови утром менее 5 пг/мл подтверждается диагноз АКТГ-независимого гиперкортицизма надпочечникового генеза. Выявление уровня АКТГ >= 29 пг\мл у детей в 70% случаев характерно для АКТГ-зависимого гиперкортицизма [16]. Стандартный 2-х дневный подавляющий тест с дексаметазоном (тест Лиддла) используется для дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм гиперкортицизма (БИК и АКТГ-эктопированный синдром). Частично сохранная чувствительность кортикотропином к стимуляции КРГ приводит к подавлению секреции АКТГ в ответ на большие дозы глюкокортикоидов, тогда как эктопические опухоли не обладают такими свойствами [17]. При подавлении уровня кортизола на 50% от исходного подтверждается центральный генез гиперкортицизма (БИК) [16]. Однако в 5–25% случаев АКТГ-эктопированного синдрома также отмечается подавление уровня кортизола в ответ на прием дексаметазона [18]. И наоборот, приблизительно у 20% пациентов с БИК может не наблюдаться подавления уровня кортизола на 50% от исходного уровня [19]. При подозрении на двустороннюю гиперплазию надпочечников также проводятся вышеописанные тесты, проведенные друг за другом. При выявлении парадоксальной секреции кортизола подтверждается диагноз первичной пигментной узелковой гиперплазии надпочечников (ППУГН). Одним из объяснений этого феномена является повышение экспрессии глюкокортикоидного рецептора (ГкР) и их стимулирующего эффекта на

каталитическую субъединицу протеинкиназы А (ПКА) в объемных образованиях надпочечниках, обусловленных этой мутацией [20, 21].

В дальнейшем необходимо проводить топическую диагностику объемного образования: МРТ головного мозга с контрастным усилением для диагностики кортикотропином, КТ надпочечников с контрастным усилением для образований надпочечников. При подозрении на АКТГ-эктопированный синдром необходимо проведение КТ и МРТ области шеи, грудной клетки, брюшной полости и малого таза для поиска опухоли. При отсутствии визуализации аденомы гипофиза по данным инструментальных методов исследования для дифференциальной диагностики кортикотропиномы и АКТГ-эктопированного синдрома проводится селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином, который является «золотым стандартом» дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм гиперкортицизма [22]. Градиент АКТГ >2 между центром и периферией до стимуляции и >3 после стимуляции десмопрессином свидетельствует о центральном генезе гиперкортицизма.

1.4 Лечение эндогенного гиперкортицизма

При установлении диагноза БИК необходимо максимально быстрое и радикальное лечение до возникновения тяжелых осложнений персистирующего гиперкортицизма. «Золотым стандартом» лечения на настоящий момент является аденомэктомия, так как есть возможность трансназального доступа с вероятностью изолированной аденомэктомии с сохранением нормальной ткани гипофиза и быстрой возможностью оценки эффекта терапии. Трансназальная аденомэктомия приводит к ремиссии во взрослой и детской популяции, по разным источникам, от 70 до 90% случаев [23-31]. Во взрослой популяции, даже при достижении ремиссии после удаления аденомы, частота рецидива заболевания достигает 25% [32,33]. При возникновении рецидива возможно проведение повторного оперативного лечения, эффективность которого снижается до 50-70% [24,32,34], или

проведение лучевого лечения, что в 90-95% случаев приводит к ремиссии заболевания [35-37].

Методом выбора для лечения образований надпочечников также является хирургический метод лечения. При наличии одностороннего поражения рекомендовано проведение односторонней адреналэктомии с опухолью, при наличии двустороннего поражения, различных вариантах нодулярной гиперплазии рекомендовано проведение двусторонних адреналэктомий [6].

1.5 Генетические особенности

Гормонально-активные объемные образования, приводящие к развитию гиперкортицизма, могут быть как спорадическими опухолями вследствие герминативных или соматических мутаций либо в составе наследственных опухолевых синдромов. Основными механизмами опухолевой трансформации при синдроме гиперкортицизма являются гиперэкспрессия рецепторов, нарушения регуляции обратной отрицательной связи и различные варианты нарушений клеточного цикла.

1.5.1. Генетические особенности при синдроме АКТГ-зависимом и АКТГ-независимом гиперкортицизме

1.5.1.1 Нарушения цАМФ/ПКА сигнального пути

В нормальных условиях кортизол вырабатывается надпочечниками под контролем ГГНО. Под воздействием гипоталамического КРГ аденогипофиз начинает секретировать АКТГ, который связывается с меланокортиновым рецептором 2 типа (MCR2), являющимся рецептором, связанным с G-белком. Активация этого рецептора приводит к диссоциации стимулирующей α-субъединицы от G-белка, что приводит к синтезу аденилатциклазы и, следовательно, цАМФ в клетке. цАМФ активирует протеинкиназу А (ПКА), состоящей из двух каталитических и двух регуляторных субъединиц. При связывании цАМФ с ПКА, каталитические субъединицы отделяются от регуляторных, и приводят к фосфоролированию белков и транскрипционных

факторов, контролирующих клеточный рост и дифференцировку. В отсутствие цАМФ каталитические субъединицы находятся в неактивном состоянии благодаря связыванию с регуляторными субъединицами [38]. После активации цАМФ/ПКА сигнального пути внутриклеточные фосфодиэстеразы (ФДЭ) приводят к распаду цАМФ [39].

Таким образом, патологическая гиперактивация звеньев цАМФ/ПКА сигнального пути может приводить к развитию гормонально-активных объемных образований.

Нарушение первого звена этого пути обусловлено мутацией в гене *GNAS,* кодирующем стимулирующую альфа субъединицу G-белка (Gas). Активирующие мутации в гене GNAS приводят к постоянной активации аденилатциклазы и повышению уровня цАМФ в клетках. Постзиготные активирующие мутации в гене *GNAS* приводят к развитию синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (МОБ). Данный синдром является мультисистемным заболеванием, компонентами которого являются пятна цвета кофе-с-молоком, фиброзная дисплазия, автономная гиперфункция эндокринных желез (гонад, щитовидной железы, гипофиза, надпочечников). Одним из редких компонентов является неонатальный синдром Кушинга за счет двусторонней диффузной\узелковой гиперплазии надпочечников, чаще всего характеризующейся многочисленными узелками, развивающихся из фетальной коры надпочечников [40]. Также соматические мутации в гене *GNAS* могут встречаться до 15% случаев кортизол-продуцирующих аденом надпочечников и двусторонних макронодулярных поражениях надпочечников [41, 42]. При синдроме МОБ есть описания гормонально-неактивных аденом гипофиза, соматотропином и пролактином, при этом на настоящее время есть описание одного исследования, в котором в трех случаях из 9 кортикотропином были выявлены соматические мутации в гене *GNAS* [43].

Следующее звено, регулирующее работу цАМФ/ПКА сигнального пути является протеинкиназа А. Инактивирующая мутация в гене регуляторной

субъединицы 1альфа (*PRKAR1A*) перестает ограничивать деятельность каталитической субъединицы ПКА, что приводит к гиперкативности цАМФ/ПКА сигнального пути и повышению функциональной и пролиферативной активности клетки [44], и приводит к развитию Карни-комплекса. Этот синдром с аутосомно-доминантным типом наследования, клинически характеризуется сочетанием множественной эндокринной неоплазии, лентигиноза и миксом сердца [45]. Причиной гиперкортицизма при этом синдроме является первичная пигментная узелковая гиперплазия надпочечников (ППУГН), которая выявляется более чем у 60% пациентов с Карни-комплексом [46]. По данным мировой литературы при Карни-комплексе описано 2 случая адренокортикального рака (АКР) у пациентов с ППУГН и герминативной мутацией в гене *PRKAR1A* [47]. В обоих случаях, помимо гиперкортицизма, была выявлена гиперандрогения, также они характеризовались агрессивным течением с быстрым прогрессированием и метастазированием. Соматические мутации в гене *PRKAR1A* также выявляются в кортизол-продуцирующих аденомах надпочечников [48].

Развитие кортикотропином при Карни-комплексе не характерно, хотя в один из путей передачи сигнала от рецепторов к КРГ к ядру тоже вовлечена ПКА. В настоящее время известно всего два случая БИК в сочетании с Карни-комплексом [49-51].

1.5.1.2 Wnt/β-катенин сигнальный путь

Wnt/β-катенин сигнальный путь запускает каскад реакций, которые регулируют процессы поддержания клеточного гомеостаза, что доказывает ключевую роль этого сигнального пути в развитии различных видов опухолей [52-55]. Без активирующего влияния белков Wnt в клетке формируется белковый комплекс «деструкции», включающий белок AXIN, APC, CK1 (casein kinase 1) и GSK3 β (glycogen synthase kinase-3 β) [52]. Центральным регулирующим шагом Wnt-сигнального пути является фосфорилирование β-катенина компонентами комплекса деструкции.

Фосфорилированный β-катенин распознается убиквитинлигазой, которая запускает деструкцию β-катенина в протеасомах [56]. Благодаря этому в отсутствии Wnt-стимуляции цитоплазматическая концентрация β-катенина поддерживается на низком уровне. В случае Wnt-стимуляции на клеточной поверхности образуется сложный рецепторный комплекс, что приводит к восстановлению белка AXIN и ингибированию фосфорилирования β-катенина, приводя к его стабилизации. Накопленный β-катенин мигрирует в ядро и включает транскрипцию генов Wnt ответа: c-myc, циклин D1 и др. [57]. Активирующие мутации сигнального пути Wnt (мутации компонентов деградирующего комплекса (APC, AXIN, β-катенина) описаны при различных видах злокачественных опухолей [55, 58].

Мутации в гене β-катенина (*CTNNB1*) являются одними из наиболее частых нарушений при адренокортикальных аденомах и адренокарциномах [59,60]. По данным литературы опухоли с мутацией в гене *CTNNB1* чаще имеют крупные размеры и являются гормонально-неактивными [61]. Также есть описания выявления активирующих мутаций в гене *CTNNB1* при ППУГН [62]. Предполагается наличие перекреста между цАМФ и Wnt/β-катенин сигнальных путей, приводящих к накоплению β-катенина при ППУГН. Накопление β-катенина наблюдается и у пациентов с аденомами надпочечников с соматическими мутациями в гене *PRKAR1A*. ПКА участвует в фосфорилировании GSK3β, что приводит к ингибированию комплекса деструкции и стабилизации β-катенина [63]. Также действие ПКА на β-катенин может быть через участие ПКА в связывании β-катенина и его коактиватора, и возможным прямым действием ПКА на фосфорилирование β-катенина и его стабилизацию [64,65].

Также по данным литературы в редких случаях в кортикотропиномах находят мутации в гене *CTNN1B*, кодирующем β -катенин [60].

1.5.1.3 Другие механизмы регуляции клеточного цикла, пролиферации и апоптоза

Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН 1)

Синдром обусловлен мутацией в гене *MEN*, кодирующем белок менин, который является опухолевым супрессором, регулирующим клеточный цикл и транскрипцию [3,43]. Недостаточность менина приводит к гиперплазии, а отсутствие менина – к опухолевой трансформации клеток. Наиболее часто развиваются опухоли паращитовидных желез, гастроэнтеропанкреатические нейроэндокринные опухоли (НЭО), и у 30-40% пациентов выявляются аденомы гипофиза, из них только до 10% случаев – кортикотропиномы [66,67]. В гипофизе менин взаимодействует с активином, активация которого приводит к снижению секреции пролактина (ПРЛ), соматотропного гормона (СТГ) и АКТГ и торможению клеточной пролиферации [68]. При синдроме МЭН1 чаще встречаются макроаденомы (в 76-85%), характеризующиеся более инвазивным ростом [67,69]. Также примерно у 10% пациентов с синдромом МЭН1 развиваются объемные образования надпочечников, из них до 5% случаев выявляют развитие АКТГ-независимого гиперкортицизма [66, 70].

Синдром Ли-Фраумени

Причиной развития данного опухолевого синдрома является мутация в гене *TP53* [3,40]. Белок, кодируемый геном *TP53*, является ключевым опухолевым супрессором, участвующим в регуляции клеточного цикла, репарации ДНК, апоптозе. Мутации *TP53* приводят к нарушению структуры и функции белка p53 при многих видах опухолей [74].

При исследованиях АКР соматические мутации в этом гене выявляются до 20% случаев [75]. АКР в детской популяции является редким заболеванием, но наиболее частой мутацией при выявлении АКР у детей являются герминативные мутации в гене *TP53* (до 75% по данным некоторых источников) [73,74].

В кортикотропиномах мутации в гене *TP53* описаны крайне редко. В исследовании Buckley N. et al (1995), проведенном на 95 образцах аденом гипофиза и 26 инвазивных опухолях гипофиза, повышенное содержание p53 было выявлено в 2 из 4 инвазивных кортикотропином и в 16 из 32 неинвазивных кортикотропином [71]. Есть также описания 2 случаев АКТГ-секретирующих карцином гипофиза и 1 случай инвазивной кортикотропиномы с высоким индексом Ki-67, у которых были выявлены соматические мутации в гене *TP53* [3].

1.5.2 Генетические особенности при синдроме АКТГ-зависимого гиперкортицизма

1.5.2.1 Нарушения регуляции прямой и обратной отрицательной связи

Ключевой фактор в работе отрицательной обратной связи для гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси – это глюкокортикоидный рецептор. Есть единичные описания мутаций в гене ГкР (*NR3C1)* при БИК [3,43]. Относительно более частым нарушением ГкР может являться снижение его активности за счет соматической потери одного аллеля гена *NR3C1* в клетках опухоли (потеря гетерозиготности) [75].

Повышенная экспрессия белка теплового шока 90 (HSP90), который обеспечивает ГкР нужное для связи с Гк конформационное состояние и защищает его от деградации [76], также может играть роль в нарушении механизмов отрицательной обратной связи. Гиперпродукция HSP90 приводит к нарушению нормального конформационного состояния ГкР, теряется аффинность глюкокортикоидного рецептора к глюкокортикоидам и, следовательно, возможность оказывать ингибирующий эффект на транскрипцию гена *POMC* [43].

В потере отрицательной обратной связи при кортикотропиномах также могут играть роль транскрипционные ко-регуляторы, без которых ГкР не способен подавить транскрипцию *POMC*: Brg1 (Brachma-related gene1) и HDAC2 (гистон-деацителаза 2 типа) [43, 47], исследования для оценки частоты и влияния данных ко-регуляторов на развитие кортикотропином еще ведутся.

Рецептор к КРГ является трансмембранным, поэтому после его активации в кортикотрофе включается внутриклеточный путь передачи сигнала. На последних этапах этого пути активируются транскрипционные факторы: они проникают в ядро и связываются с промоторной областью *POMC*, обеспечивая начало его транскрипции [43]. Среди этих транскрипционных факторов возможная роль в развитии кортикотропином была описана для фактора роста нервов IB (nerve growth factor IB, NGFI-B или Nur77) и тестикулярного ядерного рецептора 4 типа (testicular orphan nuclear receptor-4, TR4) [43].

1.5.2.2 Нарушения регуляции клеточного цикла

Переход клетки из одной жизненной фазы в другую обеспечивается циклин-зависимыми киназами (ЦЗК, CDK) и их активаторами - циклинами, в то время как приостановление смены периодов жизни клетки происходит под влиянием ингибиторов, нейтрализующих активность циклинов и ЦЗК [77]. Равновесие между двумя этими процессами обеспечивает нормальное прохождение клеточного цикла.

Переход от G1 к S опосредуется циклином Д1 и связанной с ним ЦЗК4, а также циклином Е в комплексе с ЦЗК2 [77,78]. Гиперэкспрессия этих циклинов играет важную роль в онкогенезе, так как она приводит к ускоренному переходу к репликации неготовых клеток с недостаточным запасом факторов роста [78]. В исследовании Jordan S. (2000), посвященном оценке роли циклинов Д и Е в формировании различных видов опухолей гипофиза (95 образцов) было выявлено, что во всех видах опухолей, но особенно в кортикотропиномах (n=19) отмечалась повышенная экспрессия циклина Е [78]. По всей видимости, такое повышение циклина Е в кортикотропиномах связано со сниженным содержанием в этих опухолях супрессора опухолевого роста - ингибитора циклин-зависимой киназы 1В - p27, в функции которого как раз входит блокирование ЦЗК [43,77]. Помимо p27, способностью подавлять активность циклина Е и ЦЗК2 обладает транскрипционный ко-регулятор – Brg1: в исследовании Roussel-Gervais A. (2010) клеточной модели кортикотрофов было показано, что при отсутствии

Brg1 отмечается значимое повышение экспрессии циклина E [79]. Таким образом, снижение активности Brg1 в кортикотрофах может приводить как к нарушению отрицательной обратной связи, так и повреждению клеточного цикла [80].

Еще одно доказательство тесной взаимосвязи между регуляцией отрицательной обратной связи и клеточного цикла получено в другом исследовании Roussel-Gervais A. (2016), где было показано, что в кортикотрофах глюкокортикоиды вызывают активацию гена *CABLES1*. Продукт этого гена является негативным регулятором клеточного цикла: в его отсутствие в клеточных моделях кортикотрофов отмечалось резкое повышение пролиферирующей активности и снижение экспрессии p27 [81]. Данные о нарушениях CABLES1 в клетках кортикотропином человека варьируют: в исследовании Hernández-Ramírez L.C. (2017) потенциально патогенные мутации в гене *CABLES1* были выявлены в 2% случаев (n=181) [82], по данным Roussel-Gervais A. (2016, n=31) снижение экспрессии CABLES1 обнаружено в 55% случаев [81]. Согласно Roussel-Gervais A. (2016), CABLES1 повышает экспрессию p27, который, в свою очередь, блокирует клеточную пролиферацию за счет угнетения рецепторов к эпидермальному ростовому фактору (EGF), хорошо известному по своей онкогенной активности [3,43].

В 2015г Martin Reincke опубликовал исследование в котором с помощью экзомного секвенирования ДНК, выделенного из ткани 10 удаленных кортикотропином в 4 случаях были выявлены соматические мутации в гене *USP8*, который кодирует деубиквитиназу 8 [83]. Для нормальной жизнедеятельности клетки важное значение имеет своевременная деградация дефектных белков. Разрушение таких белков (протеолиз) производится протеосомой. Запуск протеолиза начинается после того, как к белку-мишени, присоединяется убиквитин, и такой комплекс распознается протеосомой, вызывая разрушение белка. Такой

путь деградации белков может быть предотвращен, так как комплекс убиквитин – белок-мишень способен разрушаться под влиянием специальных ферментов – убиквитин-специфических протеаз (USP) [43,84]. Из этих ферментов в кортикотрофах особую роль играет убиквитин-специфическая протеаза 8 (USP8), так как она регулирует внутриклеточное содержание рецепторов EGF [84]. Активирующие мутации *USP8* стабилизируют и предотвращают деградацию рецепторов EGF, стимулируя тем самым функцию EGF в кортикотрофах и приводя к повышенной экспрессии *POMC* [3,43]. В последующих исследованиях выяснилось, что из всех соматических мутаций, активирующие мутации *USP8* в кортикотропиномах встречаются с наибольшей частотой (31-61%) как среди взрослых пациентов, так и среди детей. Соматические мутации *USP8* ассоциированы с формированием микроаденом с высокой секрецией АКТГ и повышенным риском рецидивов [3,5,43,85]. Также, по результатам работы Hayashi et al, в кортикотропиномах, несущих мутацию в гене *USP8*, чаще выявляются рецепторы к соматостатину 5 типа, в связи с чем они могут отвечать на терапию препаратами аналогов соматостатина [5]. В 2019г появилось описание нового генетического синдрома, вызванного герминативной мутацией в гене *USP8* у девочки 16 лет с рецидивирующей БИК в совокупности с задержкой умственного развития, ихтиозоформной эритродермией, хронической почечной и легочной недостаточностью, гипергликемией, кардиомиопатией и парциальным СТГ-дефицитом [86].

В единичных случаях при аденомах гипофиза могут быть выявлены активирующие мутации в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую субъединицу p110α фосфатидил-инозитол 3'-киназы (PI3K) [87]. PI3K/AKT сигнальный путь играет важную роль в активации клеточного роста и пролиферации. Чаще всего нарушения *PIK3CA* выявляются при раке молочной железы, колоректальном раке, раке эндометрия, тогда как при аденомах гипофиза они встречаются очень редко: есть описания случая инвазивной кортикотропиномы и случая неинвазивной АКТГ-

секретирующей микроаденомы гипофиза, в которых были выявлены мутации в гене *PIK3CA* [87].

1.5.2.3 Другие механизмы регуляции клеточного цикла, пролиферации и апоптоза

Подавляющее большинство аденом гипофиза как у детей, так и у взрослых, являются спорадическими случаями, но менее чем в 5% случаев они могут встречаться при ряде наследственных синдромов, что нужно учитывать при выявлении БИК у детей [43]. Особенностью детского возраста является относительно высокий по сравнению со взрослой популяцией удельный вес наследственных синдромов, включающих в свой состав кортикотропиномы.

Синдром множественных эндокринных неоплазий 4 типа (МЭН-4)

У 2% пациентов с МЭН-1 подобным синдромом при отсутствии патологии в *MEN* выявляются герминативные мутации в гене *CDKN1B,* в этом случае синдром называют МЭН 4 [43]. Продукт гена *CDKN1B* — супрессор опухолевого роста, ингибитор циклин-зависимой киназы 1B p27, который регулирует клеточный цикл. О роли p27 в развитии кортикотропином уже упоминалось выше: локальная сниженная экспрессия p27 отмечена в кортикотропиномах, что связывают с потерей функции его негативного регулятора CABLES [88]. В составе синдрома МЭН 4 – аденомы гипофиза, аденомы паращитовидных желез, нейроэндокринные опухоли, различные доброкачественные и злокачественные опухоли [3,88]. По данным исследования Chasseloup et al, в которое было включено 211 пациентов с БИК (из них 199 детей), было выявлено 5 детей, имеющих герминативную мутацию в гене *CDKN1B* (в 1 случае была также выявлена соматическая мутация в гене *USP8*) [88].

Синдром множественных эндокринных неоплазий 2-го типа (МЭН 2)

Классическими вариантами синдрома МЭН 2 являются сочетание медуллярного рака щитовидной железы с феохромоцитомой и

гиперпаратиреозом (МЭН-2А), либо сочетание медуллярного рака щитовидной железы, феохромоцитомы, ганглионевром, утолщения зрительного нерва с марфаноподобной внешностью (МЭН-2Б) [3,43]. Причиной возникновения синдрома служит гетерозиготная мутация в протоонкогене *RET*. Этот ген кодирует трансмембранный рецептор с тирозинкиназной активностью. RET активирует mTOR, отвечающий за рост, дифференцировку и выживание клетки. Аденомы гипофиза не являются классическим компонентом синдрома МЭН 2, описано лишь несколько случаев развития аденомы гипофиза в составе синдрома МЭН 2, среди которых у 3 пациентов был выявлен БИК, в двух из этих случаев доказана мутация в гене *RET* [89-91].

Синдром семейных изолированных аденом гипофиза

Аденомы гипофиза также могут встречаться в составе синдрома семейных изолированных аденом гипофиза (FIPA, familial isolated pituitary adenomas), характеризующегося появлением аденом гипофиза у 2 и более членов семьи. В 20% семейных случаев причиной FIPA являются инактивирующие мутации в гене супрессора опухолевого роста *AIP* [3,43]. Белок AIP оказывает свой эффект при взаимодействии с арилуглеводородным рецептором. Описано лишь 3 случая кортикотропином у пациентов с FIPA и мутацией в *AIP* [92]. Большинство аденом у AIP-позитивных пациентов являются макроаденомами, в основном с инвазивным ростом, имеют более агрессивные характеристики и ассоциированы с более ранним началом заболевания и ускоренным ростом опухоли, резистентностью к консервативной терапии [93,94].

DICER-синдром

Помимо МЭН и FIPA, аденомы гипофиза описаны также в составе DICER-синдрома, обусловленного гетерозиготными мутациями в гене *DICER*, кодирующем одноименный белок Dicer1. Dicer1 запускает процесс

торможения экспрессии генов на пост-транскрипционной стадии и деградацию ДНК при апоптозе, регулирует синтез малых РНК, также есть данные об участии Dicer1 в поддержании нормальной структуры и объема клеточного ядра [92]. Герминативные инактивирующие мутации в гене *DICER1* приводят к развитию опухолевого синдрома с аутосомно-доминантным типом наследования с очень низкой пенетрантностью и ранней манифестаций. Проявления DICER-синдрома включают в себя пневмолегочные бластомы, кисты легких, кистозные нефромы, Сертоли-Лейдига клеточные опухоли яичников, мочеполовые саркомы, пинеобластомы, новообразования щитовидной железы и бластомы гипофиза [3,43]. Последние опухоли крайне редко встречаются, являются агрессивными, вероятно, врожденными опухолями. Все описанные случаи бластом гипофиза с герминативными и соматическими мутациями в *DICER1* характеризовались АКТГ-зависимым гиперкортицизмом с манифестацией, начиная от первого года жизни и крайне неблагоприятным прогнозом, в том числе летальным исходом, как описано в нескольких случаях у детей [3].

Комплекс туберозного склероза

Туберозный склероз – аутосомно-доминантное заболевание. Выделяют туберозный склероз 1-го типа, обусловленный мутацией гена *TSC1*, который кодирует белок гамартин, и туберозный склероз 2-го типа, обусловленный мутацией гена *TSC2*, кодирующего белок туберин. Гены *TSC1* и *TSC2* в норме являются естественными генами-супрессорами опухолевого роста. Белковые продукты генов *TSC1* и *TSC2*, гамартин и туберин способны ингибировать опосредованный комплексом mTORC1 (mammalian Target of Rapamycin Complex 1) сигнальный каскад. В результате мутаций в этих генах происходит активация пути сигнальной передачи PI3K/Akt/mTOR [95]. Аденомы гипофиза не являются основным компонентом синдрома, однако есть описание 2 случаев кортикотропином с мутацией в гене *TSC2* и другими компонентами синдрома туберозного склероза [96,97].

1.5.3 Генетические особенности при синдроме АКТГ-независимого гиперкортицизма

1.5.3.1 Нарушения цАМФ/ПКА сигнального пути

По данным мировой литературы нарушения в регуляции этого сигнального пути являются наиболее частыми причинами развития доброкачественных объемных образований надпочечников. В данной части приводятся другие варианты нарушений регуляции данного пути, помимо представленных выше [6].

Как уже было сказано раньше, протеинкиназа А участвует в регуляции работы цАМФ/ПКА сигнального пути и состоит из двух каталитических и двух регуляторных субъединиц. При связывании цАМФ с ПКА, каталитические субъединицы отделяются от регуляторных, что приводит к фосфоролированию белков и транскрипционных факторов, контролирующих клеточный рост и дифференцировку. Активирующие мутации в гене *PRKACA* приводят нарушению стабильности ПКА и гиперкативности цАМФ/ПКА сигнального пути, клеточной пролиферации и избыточной секреции кортизола, что служит основанием для развития объемных образований надпочечника [98, 99]. По данным последних лет более чем в 1/3 случаев кортизол-продуцирующих аденом надпочечника (22 из 59 односторонних кортизол-продуцирующих аденом – 37%) выявляются активирующие мутации в гене *PRKACA* [100]. Аналогичные данные были получены в последующих исследованиях пациентов с объемными образованиями надпочечников и синдромом Кушинга [98, 101-103]. Также во всех этих исследованиях мутации в гене *PRKACA* были выявлены только в доброкачественных кортизол-продуцирующих объемных образованиях надпочечников, что объясняется патогенезом активации ПКА вследствие стимуляции MCR2, приводящей к избыточной продукции кортизола. Клинически была отмечена тенденция к более маленькому размеру объемных образований в сравнении с образованиями, не имеющими данной мутации.

Также во всех случаях мутации были выявлены только в ткани опухоли. Причиной отсутствия данных мутаций в АКР было предположено механизмом развития объемных образований надпочечников: ПКА-зависимым в доброкачественных образованиях и ПКА-независимым – в злокачественных [104]. Амплификации гена *PRKACA* описаны в нескольких случаях микро- и макронодулярных гиперплазиях надпочечников [100, 105]

Фосфодиэстеразы (ФДЭ) - группа ферментов, участвующих в регуляции сигнальных путей, связанных с рецепторами на поверхности клеточной мембраны. цАМФ-ФДЭ катализируют расщепление цАМФ, осуществляя регуляцию уровня цАМФ после стимуляции цАМФ/ПКА сигнального пути. Инактивирующие мутации в генах ФДЭ приводят к накоплению цАМФ в клетках и гиперактивации цАМФ/ПКА сигнального пути [6].

Мутации в 2 фосфодиэстеразах, ФДЭ11А и ФДЭ8В, описаны при некоторых вариантах гиперплазий надпочечников, а именно при изолированных ППУГН и изолированных микронодулярных узелковых гиперплазиях надпочечников (МУГН) [3, 6]. ФДЭ11А является цАМФ- и цГМФ-специфической фосфодиэстеразой. По данным литературы описано 5 различных мутаций в гене *PDE11A* и АКТГ-независимым гиперкортицизмом, 2 - у пациентов с изолированной ППУГН, остальные выявлены у пациентов с изолированными МУГН [106]. Ген *PDE8B* кодирует цАМФ-фосфодиэстеразу и имеет самую высокую афинность к цАМФ среди всех ФДЭ [107]. Впервые мутация была описана у 2-летней девочки с АКТГ-независимым синдромом Кушинга и МУГН [108]. В исследовании 216 пациентов с объемными образованиями надпочечников, включающих разные виды гиперплазий, гормонально-активных и неактивных аденом надпочечника и АКР, были выявлены герминативные мутации в гене *PDE8B* у пациентов двусторонними макронодулярными и пигментными гиперплазиями надпочечников с гиперсекрецией кортизола, гормонально-активными аденомами, инциденталомами надпочечников и у 1 пациента с АКР [109].

1.5.3.2 Wnt/β-катенин сигнальный путь

Аномальное накопление β-катенина встречается в больше половины случаев объемных образований надпочечников, однако только в 1/3 случаев выявлялись мутации в гене *CTNNB1,* что привело к поиску других возможных механизмов вовлечения Wnt/β-катенин сигнального пути в развитии объемных образований надпочечников. Белок APC является одним из компонентов вышеописанного сигнального пути, входит в состав комплекса деструкции и контролирует деградацию β-катенина (рис). Таким образом, инактивация белка APC может приводить к стойкой активации Wnt/β-катенин сигнального пути.

Семейный аденоматозный полипоз (САП) – аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся развитием множественных аденоматозных полипов в ЖКТ и внекишечными проявлениями, включающими в себя эндокринные опухоли, в том числе надпочечников [110, 111]. Аномальное накопление β-катенина описано у пациентов с аденомами надпочечников, АКР и макронодулярными гиперплазиями надпочечников и САП с выявленными инактивирующими мутациями гена *APC*, но не выявлены при исследовании спорадических объемных образованиях надпочечников [112,113].

1.5.3.3 Мутации в гене ARMC5

При изучении группы пациентов с первичной двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников (ПДМГН) в 55% случаев (18 пациентов из 33) была выявлена инактивирующая мутация в гене *ARMC5* [114]. Этот ген кодирует белок Armadillo repeat containing 5, функция которого до конца пока не изучена. На линиях клеток адренокортикального рака H295R проводилось изучение функции этого гена, и было показано, что инактивирующие мутации в гене *ARMC5* приводят к утрате способности клеток коры надпочечников индуцировать апоптоз, что может объяснять крупные размеры надпочечников при ПДМГН [115]. Также есть данные о связи продуктов этого гена с

цАМФ/ПКА сигнального пути, что и делает его участие в развитии объемных образований надпочечников таким важным [115]. Примечательно, что гиперсекреция кортизола при ПДМГН не является истинно АКТГ-независимой, поскольку опухолевые клетки продуцируют АКТГ, который оказывает пара- и аутокринное воздействие на секрецию кортизола [116].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Первый фрагмент работы включал в себя динамическое наблюдательное исследование двух выборок пациентов с использованием ретроспективно полученной информации («случай-контроль»). В одну выборку были включены пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом, другая выборка состояла из пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом. Набор пациентов в группы проводился на основании соответствия критериям включения и при отсутствии критериев исключения. Данный этап исследования включал клиническое обследование пациентов. В обеих группах регистрировались варианты манифестации заболеваний, исследовался спектр клинических и лабораторно-инструментальных характеристик, проводился скрининг осложнений, оценивались результаты лечения.

Второй фрагмент работы включал в себя проведение молекулярно-генетического исследования пациентам с кортикотропиномами для поиска соматических мутаций. Дизайн данного фрагмента исследования определен как одномоментный («случай-контроль»). Анализ данных включал оценку результатов молекулярно-генетического исследования, сопоставление с данными клинического течения заболевания и влияния на результаты лечения.

Другой фрагмент работы включал в себя анализ особенностей мультистероидного профиля пациентов. Дизайн данного фрагмента исследования определен как одномоментный («случай-контроль»). Анализ данных включал оценку результатов мультистероидного профиля пациентов с АКТГ-зависимым и независимым гиперкортицизмом, сопоставление с результатами мультистероидного профиля пациентов из групп сравнения (инциденталомы надпочечников и преждевременное адренархе).

2.1.1 Критерии соответствия

Для участия в исследовании из базы данных пациентов НМИЦ эндокринологии были отобраны все пациенты с эндогенным

гиперкортицизмом, находившиеся на стационарном лечении в Институте Детской Эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ в период с 1992г по 2021г.

Критерии включения в группу с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом:

1. возраст на момент обследования менее 18 лет;
2. подтвержденный АКТГ-зависимый гиперкортицизм:

- нарушенный ритм секреции кортизола (уровень кортизола утром в пределах или выше референсных интервалов, уровень кортизола вечером выше референсных интервалов (>300 нмоль/л))
- нарушенный ритм секреции АКТГ (уровень АКТГ утром в пределах или выше референсных интервалов, уровень АКТГ вечером выше референсных интервалов (>25 пг/мл))
- уровень кортизола в суточной моче выше референсных интервалов (>350 нмоль/сут)
- отсутствие подавления уровня кортизола менее 50 нмоль/л после ночного теста/малой дексаметазоновой пробы (ночной тест – 1 мг на ночь/малый тест с дексаметазоном – 30 мкг/кг, максимально 0.5 мг через каждые 6 часов = по 2 мг/сут в течение 48 часов, всего 4 мг)
- подавление уровня кортизола более чем на 50% от исходного после большой дексаметазоновой пробы (120 мкг/кг массы тела, максимально 2 мг каждые 6 часов, максимально по 8 мг/сут в течение 48 часов, всего 16 мг) [117].

Критерии включения в группу с АКТГ-независимым гиперкортицизмом:

1. возраст на момент обследования менее 18 лет;
2. подтвержденный АКТГ-независимый гиперкортицизм:

- нарушенный ритм секреции кортизола (уровень кортизола утром в пределах или выше референсных интервалов, уровень кортизола вечером выше референсных интервалов (>300 нмоль/л))

- низкие уровни АКТГ утром и вечером (<5 пг/мл)
- уровень кортизола в суточной моче выше референсных интервалов (>350 нмоль/сут)
- отсутствие подавления уровня кортизола менее 50 нмоль/л после ночного теста/малой дексаметазоновой пробы (ночной тест – 1 мг на ночь/малый тест с дексаметазоном – 30 мкг/кг, максимально 0.5 мг через каждые 6 часов = по 2 мг/сут в течение 48 часов, всего 4 мг)

Критерии исключения: исключение эндогенного гиперкортицизма.

Способ формирования выборки – сплошной.

Описание клинических особенностей на момент манифестации заболевания, диагностика АКТГ-зависимого гиперкортицизма и результаты проведенного лечения 33 пациентов описано ранее Стребковой Н.А. и соавторами [118].

В дополнительный фрагмент исследования включены 11 пациентов с подтвержденным диагнозом эндогенного гиперкортицизма центрального или надпочечникового генеза, находившиеся на стационарном лечении в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ в период с 2005г по 2021г и которым было проведено исследование стероидного профиля методом тандемной масс-спектрометрии с целью поиска новых возможных дифференциально-диагностических маркеров различных видов объемных образований надпочечников.

В группы сравнения были включены пациенты с инциденталомами надпочечников (n=7) и преждевременным изолированным адренархе (n=23), находившимся на стационарном лечении в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ в период с 2005г по 2021г и которым было проведено исследование стероидного профиля методом тандемной масс-спектрометрии. Группа пациентов с преждевременным адренархе была выбрана как группа сравнения, учитывая тот факт, что клинические проявления преждевременного пубархе

входят в дифференциально-диагностический ряд как объемных образований надпочечников, так и гиперкортицизма.

Критерии включения в группы:

1. возраст на момент установления диагноза менее 18 лет;

2. подтвержденный диагноз эндогенного гиперкортицизма центрального и надпочечникового генеза (критерии установления диагноза аналогичные с первым фрагментом исследования);

3. подтвержденный диагноз инциденталомы надпочечника (выявленное образование надпочечника на основании исключения гормональной гиперпродукции и определения злокачественного потенциала опухоли):

- эндогенный гиперкортицизм исключался на основании тестов с дексаметазоном (критерии установления диагноза аналогичные с первым фрагментом исследования);
- диагноз катехоламин-продуцирующих образований исключался на основании отсутствия артериальной гипертензии и/или тахикардии и отсутствия повышения уровней метанефринов и норметанефринов выше верхних пределов нормы (312 мкг\сут и 445 мкг\сут соответственно);
- первичный гиперальдостеронизм исключался на основании отсутствия артериальной гипертензии и нормального уровня альдостерон-ренинового соотношения;
- гиперандрогения исключалась при отсутствии клинических проявлений и нормальных уровней андрогенов сыворотки для пола и возраста пациента;
- для определения злокачественного потенциала опухоли пациентам проводилась КТ надпочечников с оценкой нативной плотности образования и плотности в артериальную, венозную и отсроченную фазу контрастирования. Злокачественный потенциал опухоли оценивался

высоким при выявлении высокой нативной плотности образования (>10-15 ед.Н.) и задержки вымывания контраста в отсроченную фазу (<50% через 10 минут);

4. подтвержденный диагноз адренархе:

- диагноз устанавливался после исключения гонадотропинзависимого преждевременного полового развития (допубертатные уровни гонадотропинов и эстрадиола сыворотки, отсутствие пубертатного выброса ЛГ на пробе с аналогом ГнРГ), неклассической формы ВДКН (уровень 17-гидроксипрогестерона < 6 нмоль/л (< 2 нг/мл)), андрогенпродуцирующих образований (уровни ДГЭА-С соответствует уровню характерному для 2 стадии по Таннер (<135 мкг/дл или <3.7 мкмоль/л))

<u>Критерии исключения из группы:</u>

1. другая гиперсекреция надпочечников (альдостеромы, феохромоцитомы);
2. отсутствие данных мультистероидного профиля.
3. пациенты с высоким злокачественным потенциалом опухоли по данным КТ (исключены по причине малочисленности группы – 2 человека)

Способ формирования выборки – сплошной.

В другой дополнительный фрагмент исследования включено 14 пациентов с подтвержденным диагнозом болезни Иценко-Кушинга, находившимся на стационарном лечении в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ в период с 1992г по 2021г, которым было проведено молекулярно-генетическое исследование (полноэкзомное секвенирование) в крови и ткани опухоли для поиска соматических мутаций.

Критерии включения в группы:

1. возраст на момент установления диагноза менее 18 лет;
2. подтвержденный диагноз эндогенного гиперкортицизма центрального генеза (критерии установления диагноза аналогичные с первым фрагментом исследования);
3. наличие выделенной геномной ДНК из ткани кортикотропиномы и из периферической крови в качестве парной нормы

Критерием исключения являлись отсутствие признаков наличия аденомы гипофиза по результатам морфологического исследования и/или отсутствие образцов периферической крови.

Способ формирования выборки – сплошной.

2.1.2 Клиническое обследование пациентов

Всем пациентам с диагностированным синдромом эндогенного гиперкортицизма проводилось клинико-лабораторно-инструментальное обследование, оценивались варианты и возраст манифестации проявлений, осложнения, методы и результаты лечения.

2.1.3 Анализ полученных результатов.

На этом этапе были определены клинические варианты манифестации заболевания, оценена частота встречаемости отдельных компонентов в представленных выборках, проанализированы результаты лабораторных, инструментальных методов обследования, результаты проведенного лечения, сопоставлены результаты молекулярно-генетического исследования с данными клинического течения заболевания, оценена возможность применения использованных молекулярно-генетических методов исследования для прогноза течения заболевания и эффективности терапии, разработаны алгоритмы обследования и лечения.

2.2. Методы исследования

Для анализа использованы данные историй болезни пациентов. Все медицинские вмешательства проводились вне исследования в рамках

рутинной клинической практики по актуальным на соответствующий момент времени международным стандартам и строго при наличии показаний у каждого конкретного пациента.

Обследование пациентов включало в себя опрос с целью определения анамнеза заболевания, анамнеза жизни и семейного анамнеза; осмотр в соответствии с пропедевтическим алгоритмом системного обследования, измерение показателей роста и веса с расчетом стандартного отклонения при помощи компьютерной программы Auxology версия 1.0 b17 (Pfizer, New York, NY, USA).

2.2.1 Лабораторные методы исследования

Лабораторные исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий лабораторией – А.В. Ильин, с 2017г – к.м.н. Л.В. Никанкина).

Определение концентраций гормонов выполнялось иммунохемилюминесцентным методом на автоматизированной системе Cobas 600 (Roche, Франция) в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Оценивались:

- свободный кортизол в суточной моче,

- АКТГ и кортизол утром и вечером в сыворотке крови.

Референсные интервалы, используемые в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии»:

- кортизол сыворотки крови (утро) - 123 – 626 нмоль/л,

- кортизол сыворотки крови (вечер) - 46 – 270 нмоль/л,

- АКТГ плазмы крови (утро) - 7 – 66 пг/мл,

- АКТГ плазмы крови (вечер) - 0,5 – 30 пг/мл,

- свободный кортизол в суточной моче - 60 – 413 нмоль/сут.

Также ряду пациентов на базе лаборатории метаболомных исследований под руководством к.м.н. Иоутси В.А. проводилось исследование спектра стероидных гормонов с использованием тандемной хроматомасс-спектрометрии, в который входили следующие стероиды и их предшественники (с референсными интервалами):

- Прогестерон - 0-1.5 нмоль/л,

- 17-гидроксипрегненолон - 0-20 нмоль/л,

- Дегидроэпиандростерон - 4-50 нмоль/л,

- 17-гидроксипрогестерон - 0.2-6 нмоль/л,

- Альдостерон - 71-980 пмоль/л,

- 11-дезоксикортизол - 0-10 нмоль/л,

- 21-дезоксикортизол - 0-1.2 нмоль/л,

- Дезоксикортикостерон - 0-1 нмоль/л,

- Кортизон - 17-84 нмоль/л,

- Прегненолон - 0-7 нмоль/л,

- Андростендион - 0.8-9 нмоль/л,

- Кортикостерон - 1-50 нмоль/л,

- Тестостерон - 0.3-2.5 нмоль/л,

- Кортизол - 140-630 нмоль/л.

2.2.2 Инструментальные методы исследования

Лучевые методы исследования осуществлялись на базе отделения лучевой диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Воронцова А.В. и отделения КТ и МРТ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством к.м.н. Тарбаевой Н.В.

Магнитно–резонансная томография головного мозга (МРТ)

МРТ-исследование головного мозга выполнено на магнитно-резонансном томографе General Electric 450 W 1,5 Тл.

Для топической диагностики проводилась МРТ головного мозга с контрастным усилением (гадолиний), до 2014 года исследования проводились на высокопольном аппарате МРТ 1 Тесла, в дальнейшем – на высокопольном аппарате МРТ мощностью 1,5 Тесла. По данным исследований данная разница в мощности аппаратов не влияет на четкость изображения и выявляемость объемных образований центральной нервной системы (ЦНС).

МРТ проводилась всем пациентам при отсутствии противопоказаний на дооперационном этапе для подтверждения диагноза, а также на послеоперационном этапе при динамическом наблюдении минимум через 6 месяцев после оперативного лечения.

При распределении кортикотропином по размеру использована классификацию аденом гипофиза J. Hardy (1970г) в модификации C. Wilson (1979г) [119, 120]:

Расположение опухоли:

1) турецкое седло нормальных размеров или фокально изменено, размер опухоли менее 10 мм – микроаденома гипофиза

2) турецкое седло увеличено, опухоль более 10 мм – макроаденома гипофиза

Дополнительно была сформирована третья группа пациентов, у которых не визуализировалась аденома гипофиза на МРТ.

Мультиспиральная компьютерная томография головного мозга (МСКТ)

МСКТ проведена на томографе компьютерном Revolution CT

Проводилась 5 пациентам на дооперационном этапе для подтверждения диагноза в связи с невозможностью проведения МРТ головного мозга.

Мультиспиральная компьютерная томография надпочечников (МСКТ)

МСКТ проведена на томографе компьютерном Revolution CT

Проводилась самостоятельно либо в комплексе с другими инструментальными методами исследования для выявления гиперплазии, опухолевых новообразований надпочечников на дооперационном этапе (14 пациентам)

Магнитно–резонансная томография надпочечников (МРТ)

МРТ-исследование выполнено на магнитно-резонансном томографе General Electric 450 W 1,5 Тл.

Проводилась самостоятельно либо в комплексе с другими инструментальными методами исследования для выявления гиперплазии, опухолевых новообразований надпочечников на дооперационном этапе (6 пациентам)

Ультразвуковое исследование надпочечников (УЗИ)

УЗ исследования осуществлялись на базе консультативно-диагностического центра ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Волеводз Н.Н., отделения ультразвуковой диагностики под руководством к.м.н. Солдатовой Т.В., врачом – специалистом ультразвуковой диагностики Артемовой А.М.

Исследование выполнялось на аппаратах УЗИ Voluson E8, Aplio 500, Philips EPIQ 5

Проводилась самостоятельно либо в комплексе с другими инструментальными методами исследования для выявления гиперплазии,

опухолевых новообразований надпочечников на дооперационном этапе (3 пациентам)

Селективный забор из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином

Исследование проводилось на базе отделения диабетической стопы ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Галстяна Г.Р., селективный забор проводился врачом по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению, сердечно-сосудистым хирургом д.м.н. Ситкиным И.И.

При сомнении в наличии гиперкортицизма центрального генеза (отсутствие визуализации аденомы гипофиза на МРТ, размер аденомы гипофиза менее 6 мм) для дифференциальной диагностики проводился селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином [121].

Селективный забор проведен 20 пациентам. Градиент АКТГ >2 между центром и периферией до стимуляции, и >3 после стимуляции десмопрессином рассматривались в качестве свидетельства центрального генеза гиперкортицизма.

2.2.3 Методы лечения

После подтверждения центрального генеза АКТГ-зависимого гиперкортицизма выполнялось нейрохирургическое вмешательство (эндоскопическая трансназальная аденомэктомия) с целью удаления опухоли гипофиза на базе нейрохирургического отделения ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Григорьева А.Ю., хирургическое лечение проводилось врачами-нейрохирургами д.м.н. Григорьевым А.Ю., к.м.н. Азизяном В.Н., Иващенко О.В и на базе ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. Бурденко».

Части пациентам в качестве первого этапа терапии и/или при возникновении рецидива заболевания проводилось лучевое лечение. Выбор метода лучевой

терапии был обусловлен временем первичного обследования и существующими на тот момент клиническими рекомендациями. До 2006 года у детей с БИК первой линией лечения была протонная терапия, с 2006 года методом выбора является хирургическое лечение, при неэффективности или невозможности его проведения использовалась стереотаксическая радиохирургия на установке гамма-нож. Доза облучения при протонотерапии составляла 40-85 Гр, 3 пациента получили повторный курс протонотерапии, 1 пациент по поводу рецидива (40 Гр), 2 пациента по поводу неэффективного первого курса ЛЛ (40 и 34,5 Гр соответственно). При проведении радиохирургии доза облучения составила 20-35 Гр. Протонотерапия проводилась в НТЦ «Медицинская физика ИТЭФ», радиохирургия на установке «гамма-нож» проводилась в ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. Бурденко» и ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ.

Пациентам с подтвержденным АКТГ-независимым гиперкортицизмом проводилось лапаротомическая/лапароскопическая одно- или двусторонняя адреналэктомия в зависимости от объема поражения и размеров образования. Лечение проводилось на базе отделения хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Кузнецова Н.С., хирургическое лечение проводилось врачами-хирургами к.м.н. Соколовым Ю.Ю., к.м.н. Бровиным Д.Н., к.м.н. Даниленко О.С., к.м.н. Аникиевым А.В., также врачами-хирургами на базе ГБУЗ "Измайловская ДГКБ ДЗМ", ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ».

2.2.4 Иммуногистохимическое исследование

Удаленную опухоль отправляли на гистологическое исследование в отдел фундаментальной патоморфологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий отделом – д.м.н., профессор А.Ю. Абросимов) для гистологической верификации опухоли.

2.2.5. Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетическое обследование проведено на базе лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии»

Минздрава России под руководством д.м.н. Тюльпакова А.Н., лаборатории генетики моногенных эндокринных заболеваний под руководством и на базе лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» под руководством д.м.н. Захаровой Е.Ю., на базе лаборатории медицинской и молекулярной генетики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

47 пациентам были выполнены молекулярно-генетические исследования по поиску герминальных вариантов, связанных с рассматриваемым фенотипом.

Забор крови производился из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК извлекали роботизированной станцией Allsheng Autopure-96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., China) из периферической крови с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови NucleoMag Blood (MN). Выделенную ДНК качественно и количественно анализировали с помощью спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) и набора Qubit dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) соответственно.

Методики молекулярно-генетического обследования:

До 2015 года – прямое секвенирование кодирующей части генов *MEN1*, *DICER1*, *GNAS*, *PRKAR1A*, *PRKACA*, *TP53* по Сэнгеру– 13 пациентам

Секвенирование по Сэнгеру производили для ампликонов экзонов соответствующих генов с использованием наборов для секвенирования BigDye Terminator v3.1 и секвенатора AB 3500.

С 2015 года – проводилось исследование методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x150 п.о.) с использованием таргетной панели, включавшей гены *AIP*, *CASR*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*,

CDKN2C, CDKN2D, DICER1, GNAS, CDC73, MEN1, POU1F1, PRKAR1A, PRKCA, PTTG2, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, MET – 20 пациентам, полноэкзомного обогащения – 14 пациентам

Подготовку полногеномной библиотеки (KAPA HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (KAPA HyperCapture, Roche, Швейцария) производили в соответствии с протоколами производителя используя наборы зондов KAPA HyperCap (Roche, Швейцария) – для таргетной панели, xGen Exome Research Panel (IDT) – для полноэкзомного обогащения.

Секвенирование производили с глубиной покрытия от 70x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x – не менее 97%.

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов (SIFT, PolyPhen-2 HDIV, Polyphen-2 HVAR, PROVEAN, CADD). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использованы программы SpliceAI и AdaBoost.

Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций

American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. В заключение включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включены в заключение.

В дополнительную выборку вошло 14 образцов свежей ткани кортикотропином/FFPE блоков и образцов периферической крови в качестве парной нормальной ткани. Методика выделения ДНК из периферической крови и подготовки полногеномной библиотеки описана выше. ДНК из блоков выделены набором QIAamp DNA FFPE Tissue kit (QIAGEN) в соответствии с протоколом производителя. Дальнейшая пробоподготовка соответствует описанной выше для полноэкзомного секвенирования. Среднее покрытие экзома после секвенирование составило около 120x.

Биоинформатический анализ до этапа коллинга вариантов также соответствует описанному выше. Соматические мутации были получены при помощи инструмента strelka2 (illumina) вместе с инструментом для получения делеций и вставок manta (illumina). Для аннотации полученных мутаций был использован инструмент vep. Для получения изменений копийности использовался инструмент facets (или sequenza).

Интерпретация клинической значимости обнаруженных вариантов проводилась согласно рекомендациям "Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer" [122].

Ранее в исследовании Маказан Н.В. у одного пациента была выявлена мутация R201C в гене *GNAS*. Поиск соматических мутаций гена *GNAS* проводился методом высокопроизводительного параллельного секвенирования и детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan™ по ДНК и методом высокопроизводительного параллельного секвенирования (Next

generation sequencing, NGS) на платформе PGM™ (Personal Genome Machine) Ion Torrent (Life Technologies, США) – проводилось 2 пациентам [123].

Ранее пациенты с подтвержденным диагнозом эндогенного гиперкортциизма в составе синдромов множественных эндокринных неоплазий (МЭН1, DICER-синдром, синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева, Карни-комплекса) описаны следующими авторами: Тюльпаков А.Н., Мамедова Е.О. и соавторы, Карева М.А., Орлова Е.М, Маказан Н.В. и соавторы [124, 125, 126]. У данных пациентов генетический диагноз подтверждался вышеописанными методами, которым в рамках нашего исследования повторное генетическое исследование не проводилось.

2.3 Статистический анализ

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 13. При анализе данных использовалось руководство по применению прикладных программ Statistica [127]. Распределения количественных признаков представлены с использованием медиан (Me) и интерквартильных интервалов [Q1; Q3], качественных признаков – абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами, рассчитанным по методу Клоппера-Пирсона. Для сравнения групп использовались метод Краскела-Уоллиса и критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), точный критерий Фишера и Хи-квадрат (для качественных признаков), лог-ранговый тест (при анализе времени до события). Пороговым уровнем статистической значимости P считали 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Группа пациентов с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом

3.1.1. Клиническая характеристика

Количество пациентов. В исследование были включены 100 детей (52 девочки [52%], 48 мальчиков [48%])

Возраст пациентов. Средний возраст манифестации составил 10,0 лет [8,0;12,0], на момент установления диагноза средний возраст составлял 14,1 лет [11,65;15,65]. Среднее время с момента появления первых клинических признаков до установления диагноза составило 2,7 лет [1,7;4,8].

Клинические проявления заболевания. Наиболее частыми клиническими проявлениями в этой группе пациентов были: задержка роста (66/98 (67%)) в совокупности с прогрессирующей прибавкой массы тела и перераспределением подкожно-жировой клетчатки по кушингоидному типу (93/97 (96%)). Реже встречались такие проявления хронического гиперкортицизма, как головные боли (42/98 (43%)), артериальная гипертензия (46/98 (47%)), различные нарушения углеводного обмена (6/98 (6%)), гипокалиемия (4/98 (4%)) и остеопороз (12/98 (12%)) (Таблица 2).

3.1.2. Результаты лабораторных методов исследования

В таблице 2 также представлены данные гормонального профиля пациентов: АКТГ утро 55,2 [34,0;87,0] пг/мл, кортизол утро 732,0 [557,0;970,0] нмоль/л, АКТГ вечером 58,0 [36,0;86,0] пг/мл, кортизол вечером 659,5 [517,0;864,0] нмоль/л, кортизол в суточной моче 1550,0 [940,0;2475,2] нмоль/сут.

Таблица 2. Основные клинические, лабораторно-инструментальные характеристики пациентов с БИК

Показатели	**Me [Q1; Q3] или абс. и отн. частоты и их 95% ДИ**
Общая характеристика, n=100	

Пол (муж, %)	48 (48%)
Возраст манифестации, годы	10,0 [8,0;12,0], n=99
Возраст установления диагноза, года	14,1 [11,65;15,65]
Среднее время до установления диагноза, годы	2,7 [1,7;4,8], n=99
Гормональный профиль, n=95	
АКТГ(утро), пг/мл	55,2 [34,0;87,0], n=83
Кортизол (утро), нмоль/л	732,0 [557,0;970,0]
АКТГ(вечер), пг/мл	58,0 [36,0;86,0], n=71
Кортизол (вечер), нмоль/л	659,5 [517,0;864,0], n=86
Кортизол в суточной моче, нмоль/сут	1550,0 [940,0;2475,2], n=79
Клинические проявления, n=98	
Перераспределение ПЖК	93 (96%) [89,6;98], n=97
Задержка роста	66 (67%) [57,4;75,4]
Головная боль	42 (43%) [33,5;52,3]
Артериальная гипертензия	46 (47%) [37,4;56,2]
Нарушения углеводного обмена	6 (6%) [2,8;12,4]
Остеопороз	12 (12%) [7,2;19,8]
Гипокалиемия	4 (4%) [1,5;9,7]
Размеры аденомы, n=97	
Диффузная неоднородность гипофиза	39 (40%) [31;50]
Микроаденома	44 (45%) [36;54,7]
Макроаденома	14 (15%) [8,7;22,5]

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3], качественных признаков - абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - (n,%), 95% ДИ.

3.1.3. Результаты инструментальных методов исследования

Всем пациентам после лабораторного подтверждения АКТГ-зависимого гиперкортицизма проводилась МРТ головного мозга с контрастным усилением (5 пациентам было проведено КТ), по результатам которого у 45% пациентов (44/97) была выявлена микроаденома гипофиза (<10 мм), у 15% пациентов (14/97) размеры аденомы превышали 10 мм (макроаденома), у 40% пациентов (39/97) признаков аденомы обнаружено не было (Таблица 2).

3.1.4 Селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином

Селективный забор крови из нижних каменистых синусов **(**СЗКНКС) со стимуляцией десмопрессином был проведен 20 пациентам с доказанным АКТГ-зависимым гиперкортицизмом и отсутствием визуализации (13 пациентов) или размером образования менее 5 мм (7 пациентов) по результатам МРТ головного мозга с контрастным усилением для дифференциальной диагностики формы АКТГ-зависимого гиперкортицизма. У всех пациентов был подтвержден центральный генез АКТГ-зависимого гиперкортицизма (максимальный градиент между центром и периферией >2 до стимуляции и >3 после стимуляции десмопрессином). Также во время исследования есть возможность определения латерализации опухоли (максимальный градиент между синусами >1.4 свидетельствует о стороне поражения), однако по данным литературы точность латерализации варьирует от 50 до 100%. Данные о результатах селективного забора и ходе аденомэктомии и расположении опухоли были получены у 13 пациентов. Из них данные о четкой односторонней латерализации опухоли были получены у 11 пациентов, однако по описанию хода операции у 10 пациентов опухоль имела многоцентровое расположение. У 2 пациентов по результатам забора не отмечалось четкой латерализации опухоли, что совпало с расположением аденомы по результатам хирургического лечения, у данных пациентов также отмечалось мультифокальное расположение опухоли.

3.1.5. Результаты лечения

После подтверждения диагноза АКТГ-зависимого гиперкортицизма у 90 пациентов из 100 получены данные о радикальном лечении по поводу кортикотропиномы: у 70% пациентов (63/90) первым этапом лечения было хирургическое удаление кортикотропиномы - трансназальная аденомэктомия, а у оставшихся 30% пациентов (27/90) – лучевое лечение (протонотерапия/ радиохирургия на установке гамма-нож).

Сравнительная характеристика пациентов представлена в таблице №3, различий групп по полу, возрасту и визуализации аденом не отмечено.

Таблица 3. Сравнительная характеристика пациентов, разделенных в зависимости от проведенного лечения на 1 этапе.

Показатели	Группа 1 (хирургическое лечение) n=63	Группа 2 (лучевое лечение) n=27	p
Возраст (годы)	14,3 [11,4; 15,7]	13,2 [11,7; 15,5]	0,34
Пол (м/ж)	29/34	15/12	0,27

*Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), точный критерий Фишера (для качественных признаков).

** Пороговый p =0,025 (после применения поправки Бонферрони).

Эффективность хирургического лечения (ХЛ) подтверждалась в раннем послеоперационном периоде при достижении гипокортицизма (уровни кортизола менее 50 нмоль/л) либо при достижении нормального уровня кортизола в крови и в суточном анализе мочи по референсным интервалам лаборатории (до 450 нмоль/л и менее 350 нмоль/сут соответственно), а неэффективность терапии подтверждалась при сохранном высоком уровне кортизола в крови и в суточном анализе мочи. После первоначально

проведенного хирургического лечения ремиссия заболевания была достигнута у 71% пациентов (45/63): в группе с неоднородностью гипофиза — 63% (12 /19), в группе микроаденом (23 /32) — 72%, макроаденом — 83% (10/12). Статистически значимых различий в развитии ремиссии заболевания после хирургического лечения в зависимости от визуализации аденомы по результатам МРТ получено не было (P=0,21, тест Хи-квадрат).

У пациентов, получивших лучевое лечение (ЛЛ) в качестве 1 этапа, эффективность оценивалась не раньше, чем через 6 мес после терапии, также по нормализации или снижению уровня свободного кортизола в суточной моче (< 350 нмоль/сут). Из 27 пациентов, получивших ЛЛ, ремиссия была установлена у 85% пациентов (23/27): из них в группе с неоднородностью — 83% (15/18), в группе микроаденом эффективность составила 87% (7/8), в группе макроаденом эффективность терапии составила 100% (1/1). Статистически значимых различий в частоте развития ремиссии заболевания после ЛЛ в зависимости от визуализации аденомы по результатам МРТ получено не было (P=0,87, тест Хи-квадрат). Данные по частоте достижения ремиссии заболевания после 1 этапа радикального лечения представлены в таблице 4.

У 11 пациентов из 18 (61%) с доказанной неэффективностью 1 этапа хирургического лечения было проведено повторное удаление аденомы гипофиза, из них в 73% случаев (8/11) была достигнута ремиссия заболевания. Три пациента, у которых не была достигнута ремиссия заболевания, получили лучевое лечение, у одного пациента достигнута ремиссия заболевания, у двух пациентов не удалось оценить эффект лучевого лечения в связи с коротким периодом наблюдения после лечения.

Шесть пациентов из 18 после неэффективности 1 этапа хирургического лечения 2 этапом терапии получили ЛЛ (33%), у всех пациентов была достигнута ремиссия заболевания (6/6). Статистически значимых различий в частоте развития ремиссии заболевания после 2 этапа хирургического лечения

в зависимости от визуализации аденомы по результатам МРТ получено не было (P=0,3, тест Хи-квадрат). У одного пациента после неэффективности ХЛ на первом этапе не получено данных о проведении дальнейших этапов терапии.

У 4 пациентов из 27 (15%) проведенное на первом этапе лучевое лечение оказалось неэффективным. Среди них трем пациентам был проведен повторный сеанс лучевого лечения и у всех пациентов достигнута ремиссия. Одному пациенту после неэффективного лучевого лечения в качестве второго этапа было проведено хирургическое лечение, достигнута ремиссия заболевания. При достижении ремиссии заболевания после радикального лечения БИК, проводилось динамическое наблюдение пациентов. Рецидив заболевания подтверждался при развитии клинико-лабораторной картины гиперкортицизма после достижения ремиссии заболевания. Данные обо всех пациентах с рецидивом заболевания представлены в таблице 5.

Таблица 4. Ремиссия после проведенного 1 этапа лечения

Вид лечения/результат	**Все пациенты**	**Диффузная неоднородность**	**Микроаденомы**	**Макроаденомы**	**P**
1 этап ХЛ (n)	63	19	32	12	
Ремиссия (n,%) 95% ДИ	45 (71%) [58;82]	12 (63%) [38;84]	23 (72%) [53;86]	10 (83%) [52;98]	0,21
1 этап ЛЛ (n)	27	18	8	1	
Ремиссия (n,%) 95% ДИ	23 (85%) [66;96]	15 (83%) [58;96]	7 (87%) [47;99]	1 (100%) [25;100]	0,87

*Описательная статистика представлена абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - (n,%), 95% ДИ.

** Сравнение трех независимых групп проводилось при помощи теста Хи-квадрат. Пороговый P=0,002 (после применения поправки Бонферрони). ***ХЛ - хирургическое лечение; ЛЛ – лучевое лечение

Таблица 5. Характеристика пациентов с рецидивом БИК

№	Пол	Возраст манифес-тации, года	Возраст установления диагноза, года	Аденома по данным МРТ	Метод лечения, до рецидива	Гипокортицизм в исходе лечения	Время до наступления рецидива, года	Метод лечения, после рецидива	Гипокортицизм в исходе
1	ж	14,10	14,90	Микро	ХЛ	нет	2,11	ЛЛ	

				аденома					
2	м	10,00	14,30	Макро аденома	ХЛ	нет	1,70	ЛЛ	Нет
3	м	8,00	13,60	Макро аденома	ХЛ	нет	5,00	ХЛ	Да
4	ж	8,00	11,45	не визуализировалась	ЛЛ+ЛЛ	нет	4,60	ЛЛ	Нет
5	ж	8,00	15,50	Микро аденома	ХЛ	да	4,70	ХЛ	
6	ж	13,00	15,70	Микро аденома	ХЛ	да	2,50	ХЛ	Нет
7	ж	13,00	15,50	Микро аденома	ХЛ	да	4,50	ХЛ	
8	ж	7,00	15,70	Макро Аденома	ХЛ	да	2,50	ХЛ	Да
9	ж	6,00	6,11	не визуализировалась	ХЛ	да	3,60	ЛЛ	Нет
10	ж	6,00	6,90	Микро аденома	ХЛ+ ЛЛ	нет	7,40	ЛЛ	Нет

Примечание: * ХЛ - хирургическое лечение; ЛЛ – лучевое лечение

Был проведен анализ сроков развития рецидива в зависимости от размеров аденом, проведенного лечения и развития гипокортицизма после хирургического лечения на первом этапе. Для всех изучаемых предикторов был проведен анализ времени до события методом Каплана-Майера (табл 6).

Таблица 6. Сроки развития рецидива в зависимости от различных предикторов

Показатель	Группы	Срок рецидива, года (медиана и квартили)*	P
МРТ-характеристики аденомы	1 – невизуализируемая аденома (n= 37) 2 –микроаденома (n= 40) 3 –макроаденома (n= 13)	--- (4,6; ---)	0,055
Метод радикального лечения	1 – хирургическое лечение (n= 55) 2- лучевая терапия (n= 35)		**0,007**

*Часть описательных статистик не могла быть вычислена в связи с недостижением соответствующих процентилей распределений функциями времени до рецидива.

** Для сравнения 2 групп использовался лог-ранговый тест, для сравнения 3 групп - тест Хи-квадрат. Пороговый P=0,025 (после поправки Бонферрони).

Все пациенты были разделены на 3 подгруппы в зависимости от размера аденомы: 1 группа – пациенты с невизуализируемой аденомой (n=37), 2 группа – пациенты с микроаденомой гипофиза (n=40), 3 группа – пациенты с

макроаденомой гипофиза (n=13). Сравнительная характеристика пациентов представлена в таблице №7, различий групп по полу и возрасту не отмечено.

Таблица 7. Сравнительная характеристика пациентов, разделенных в зависимости от визуализации аденомы.

Показатели	**Группа 1 (невизуализируемая аденома) n=37**	**Группа 2 (микроаденома) n=40**	**Группа 3 (макроаденома) n=13**	**P**
Возраст (годы)	13,5 [11,4; 15,5]	14,0 [11,1; 15,5]	15,5 [14,3; 16,8]	0,10
Пол (м/ж)	21/16	14/26	9/4	0,046

*Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), точный критерий Фишера (для качественных признаков).

** Пороговый p =0,025 (после применения поправки Бонферрони).

Рецидив произошел у 2 пациентов из 37 с неоднородностью гипофиза (5% [0,6%;18%]), у 5 пациентов из 40 с микроаденомой (12% [4%;27%]) и у 3 из 13 пациентов с макроаденомой (23% [5%;54%]). Различия сроков развития рецидива в подгруппах статистически незначимы (p=0,055, тест Хи-квадрат, пороговый P=0,025 (после применения поправки Бонферрони)) (рис 1), что указывает на отсутствие ассоциации МРТ-характеристик со сроками развития рецидива. Влияние инвазии на вероятность возникновения рецидива не оценивали в связи с малым количеством имеющихся данных.

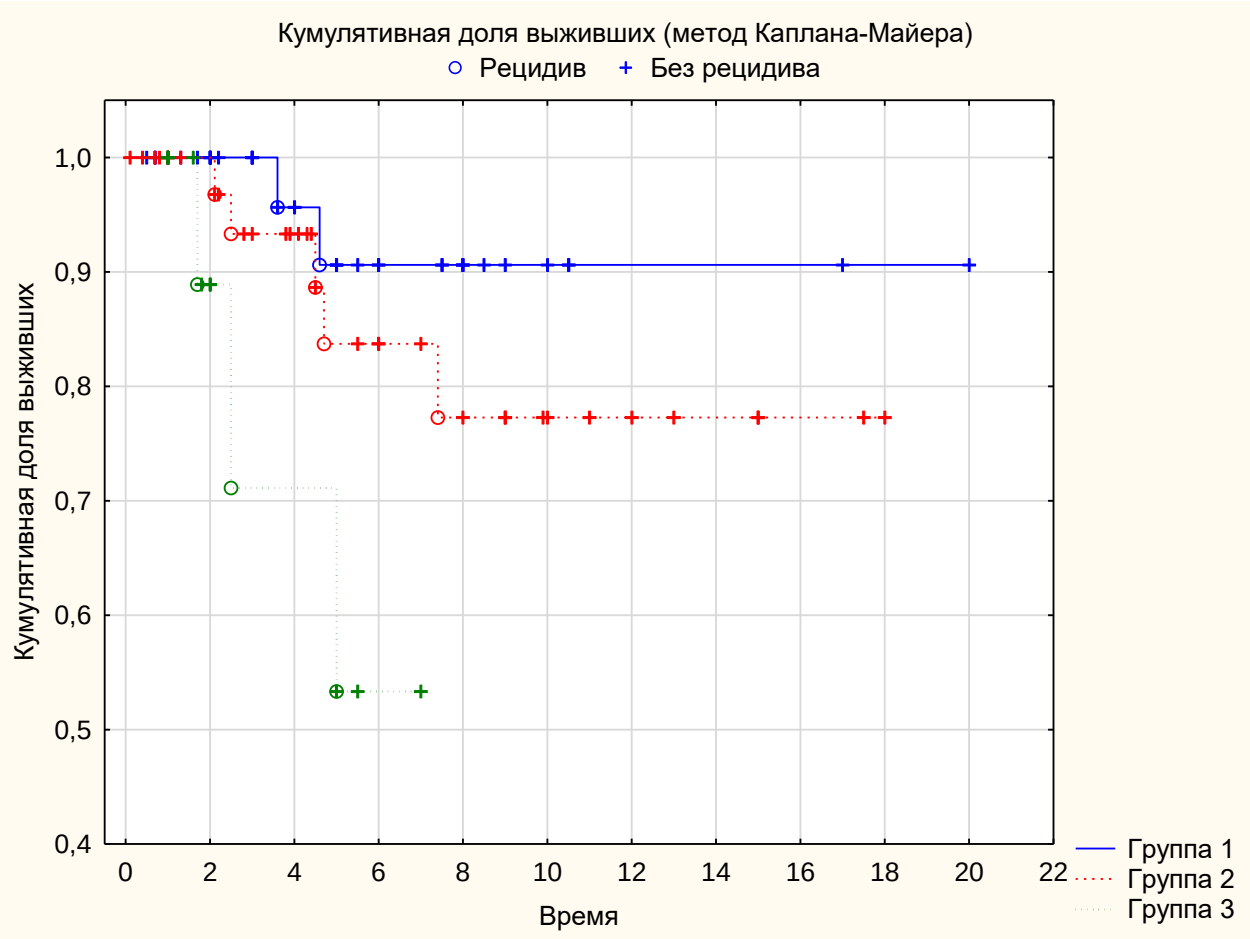

Рисунок 1. Время до рецидива в подгруппах, сформированных в зависимости от МРТ-характеристик аденом гипофиза (кривые Каплана-Майера, n=90). Группа 1 – пациенты с неоднородностью гипофиза (n= 37, рецидив у 2 пациентов), группа 2 – с микроаденомой гипофиза (n= 40, рецидив у 5 пациентов), группа 3 – с макроаденомой гипофиза (n= 13, рецидив у 3 пациентов). Среднее время до наступления рецидива: 1 группа – 4,1 год, 2 группа – 4,1 года, 3 группа – 3 года.

Проведен анализ срока рецидива с проведенным лечением. Все пациенты (n=90) были разделены на 2 группы: 1 группа – получивших только хирургическое лечение (n= 55), 2 группа – получивших на одном из этапов лучевое лечение (n=35). Сравнительная характеристика пациентов представлена в таблице №8, различий групп по полу, возрасту и визуализации аденом не отмечено.

Таблица 8. Сравнительная характеристика пациентов, разделенных в зависимости от проведенного лечения.

Показатели	**Группа 1 (после ХЛ) n=55**	**Группа 2 (после ЛЛ) n=35**	**P**
Возраст (годы)	14,9 [11,4; 16,2]	13,2 [11,7; 14,8]	0,083
Пол (м/ж)	25/30	19/16	0,27
Визуализация аденомы (+/-)	38/17	15/20	0,017

*Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), точный критерий Фишера (для качественных признаков).

** Пороговый p =0,016 (после применения поправки Бонферрони).

*** ХЛ – хирургическое лечение, ЛЛ - лучевое лечение

В 1 группе пациентов рецидив произошел у 8 пациентов из 55 (14% [6%;26%]), а во 2 группе у 2 пациентов из 35 (6% [1%;19%]). Сроки рецидива статистически значимо различались у пациентов после проведенного хирургического лечения (средний срок – 3,3 года) по сравнению с лучевым лечением (средний срок 6 лет) (p=0,007, лог-ранговый тест, пороговый P=0,025 (после применения поправки Бонферрони)). (Рис 2). Таким образом, у пациентов после проведенного хирургического лечения отмечен рецидив заболевания в более ранние сроки по сравнению с пациентами, получившими лучевое лечение.

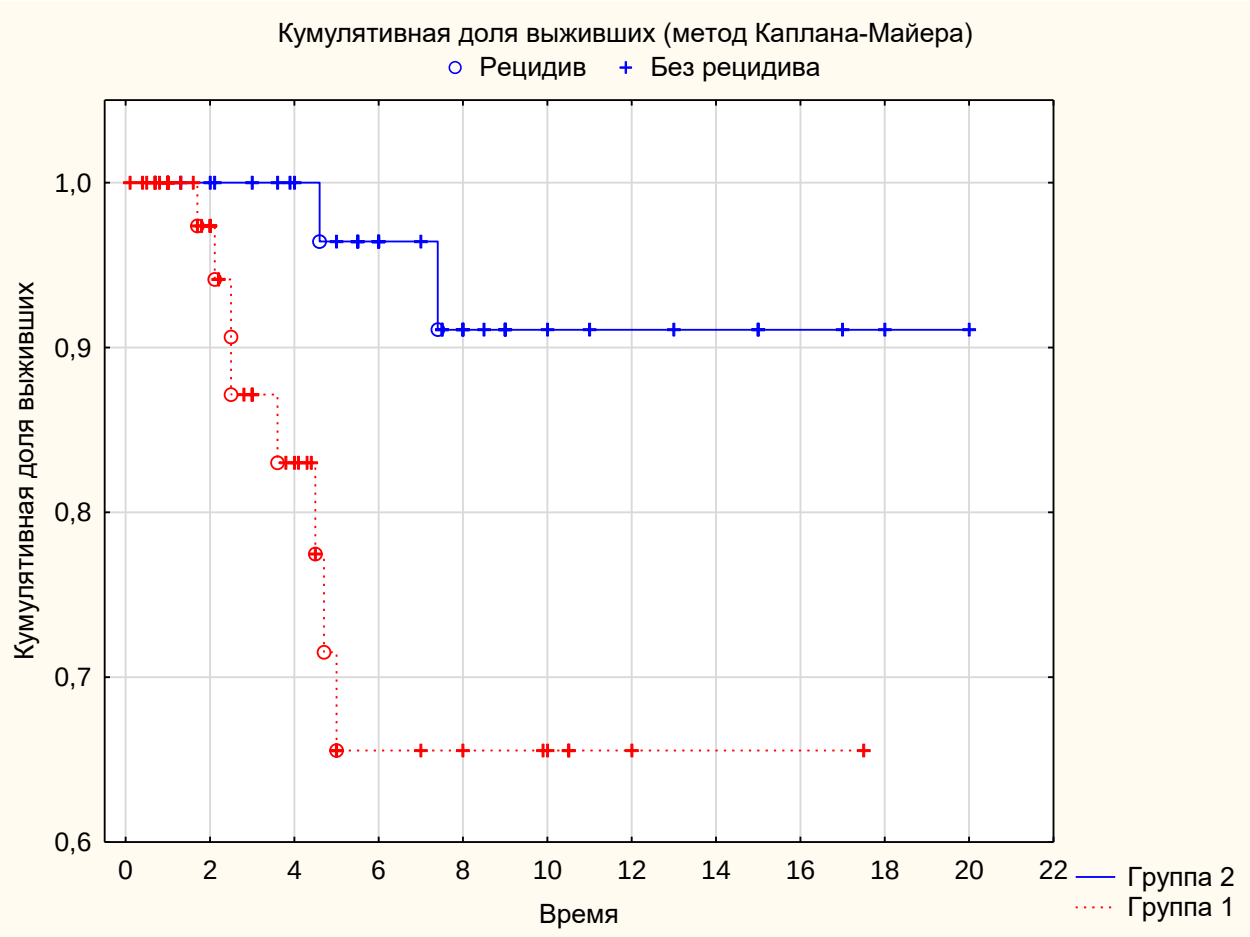

Рисунок 2. Время до рецидива в подгруппах, сформированных в зависимости от метода лечения (кривые Каплана-Майера, n=90). Группа 1 – пациенты после хирургического лечения (n= 55, рецидив у 8 пациентов), группа 2 – после лучевого лечения на одном из этапов (n= 36, рецидив у 2 пациентов). Среднее время до наступления рецидива: 1 группа – 3,3 года, 2 группа – 6 лет.

Проведен анализ сроков возникновения рецидива в зависимости от развития гипокортицизма после проведенного хирургического лечения (кортизол менее 50 нмоль/л в раннем послеоперационном периоде), что на настоящий момент является одним из самых эффективных предикторов длительной ремиссии заболевания по данным литературы. Все пациенты, получившие первым этапом хирургическое лечение (n=63), были разделены на 2 группы: 1 группа – без подтвержденного гипокортицизма (n= 23), 2 группа – с подтвержденным

гипокортицизмом в раннем послеоперационном периоде (n=38), у 2 пациентов не было получено данных об уровне послеоперационного кортизола.

Сравнительная характеристика пациентов представлена в таблице №9, различий групп по полу, возрасту и визуализации аденом не отмечено.

Таблица 9. Сравнительная характеристика пациентов, разделенных в зависимости от выявления гипокортицизма в послеоперационном периоде.

Показатели	**Группа 1** **(не развившие гипокортицизм)** **n=23**	**Группа 2** **(развившие гипокортицизм)** **n=38**	**p**
Возраст (годы)	14,1 [12,9; 14,9]	15,2 [9,9; 16,4]	0,44
Пол (м/ж)	11/12	17/21	0,51
Визуализация аденомы (+/-)	16/7	27/11	0,56

*Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), точный критерий Фишера (для качественных признаков).

** Пороговый p =0,016 (после применения поправки Бонферрони).

В 1 группе пациентов рецидив произошел у 4 пациентов из 23 (17% [5%;39%]), а во 2 группе у 5 пациентов из 38 (13% [4%;28%]). Сроки рецидива статистически значимо различались. У пациентов с послеоперационным гипокортицизмом рецидив заболевания возникал в более ранние сроки (средний срок – 2,65 лет) по сравнению с пациентами без достигнутого гипокортицизма в раннем послеоперационном периоде (средний срок – 3,56 лет) (p=0,04, лог-ранговый тест, пороговый P=0,05) (Рис 3).

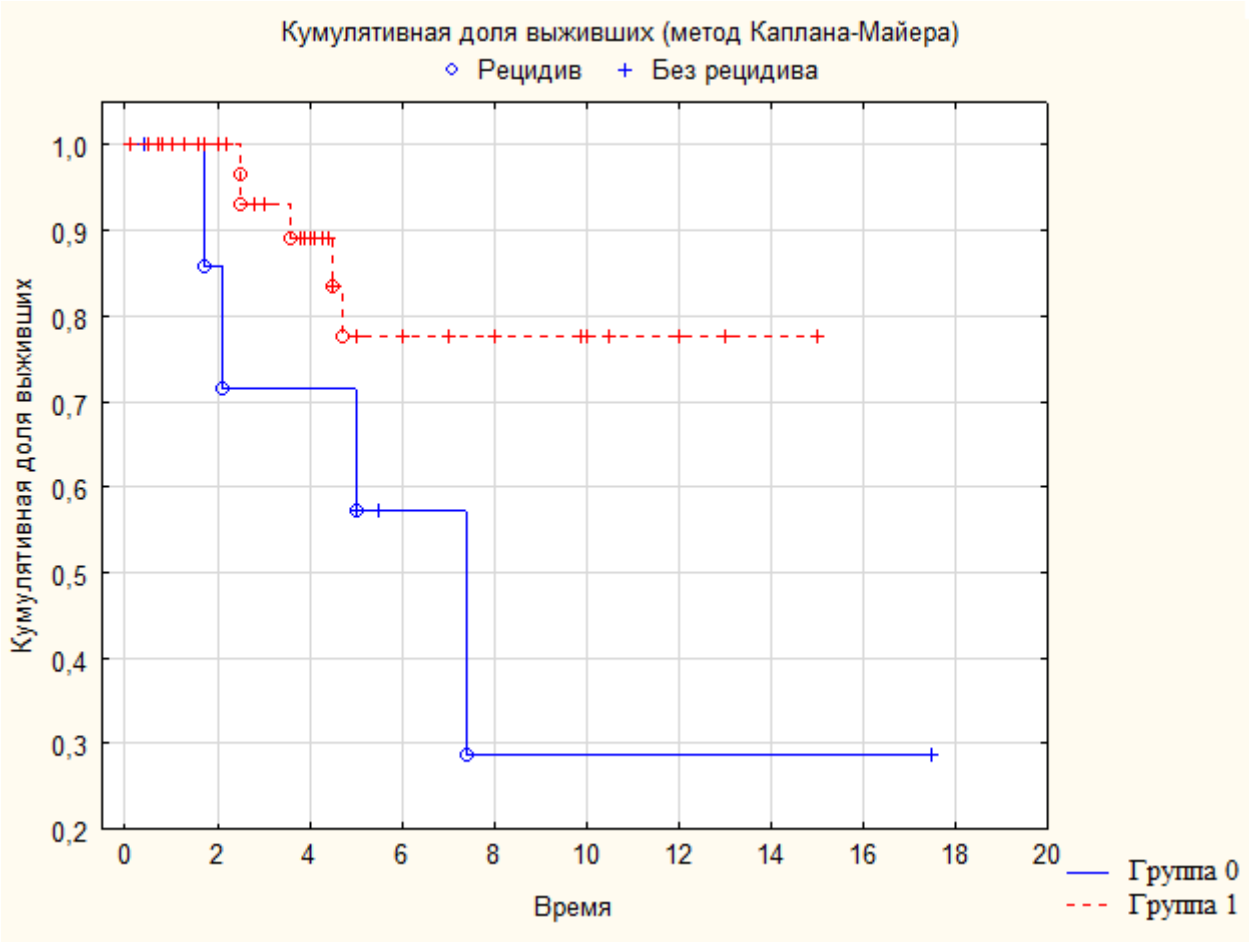

Рисунок 3. Время до рецидива в подгруппах, сформированных в зависимости от развития гипокортицизма после радикального лечения (кривые Каплана-Майера, n=63). Группа 0 – пациенты, не развившие гипокортицизм (n= 23, рецидив у 4 пациентов), группа 1 – развившие транзиторный или стойкий гипокортицизм (n= 38, рецидив у 5 пациентов). Среднее время до наступления рецидива: 0 группа – 3,56 года, 1 группа – 2,65 года.

3.1.6. Эндокринные осложнения лечения (гипопитуитаризм)

Как было указано выше, пациенты были разделены на 2 подгруппы (группа 1 – пациенты после ХЛ, группа 2 – после ЛЛ). СТГ дефицит развился у 49% пациентов (27/55) в первой группе против 91% (30/33) во второй. Вторичный гипотиреоз развился в 45% (25/55) в первой группе против 61% (20/33) во второй группе. Вторичный гипогонадизм диагностирован у 27% пациентов (13/55) в первой группе против 48% (16/33) во второй. Развитие несахарного диабета отмечено только в группе пациентов после проведенного

хирургического лечения, в 18% случаев (10/55). Частота развития СТГ-дефицита и вторичного гипогонадизма статистически значимо выше у пациентов после проведенной ЛЛ, статистически значимых различий в развитии вторичного гипотиреоза не выявлено (табл 10). Несахарный диабет развивался у пациентов только после перенесенного хирургического лечения.

Таблица 10. Гипопитуитаризм в зависимости от проведенного лечения (группа 1 –хирургическое лечение, группа 2 – лучевая терапия)

Гипопитуитаризм	**Все пациенты**	**После проведенного ХЛ**	**После проведенной ЛЛ**	**P**
	88	55	33	
СТГ-дефицит	57 (65%) [53;75]	27 (49%) [35;63]	30 (91%) [76;98]	**0,00007**
Вторичный гипотиреоз	45 (51%) [40;62]	25 (45%) [32;59]	20 (61%) [42;77]	0,17
Вторичный гипогонадизм	29 (33%) [23;44]	13 (27%) [16;41]	16 (48%) [31;66]	**0,01**
Несахарный диабет	10 (11%) [6;20]	10 (18%) [9;31]	0	**0,009**

*Описательная статистика представлена абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - (n,%), 95% ДИ.

** Сравнение трех независимых групп проводилось при помощи метода Краскела-Уоллиса. Пороговый P=0,01 (после применения поправки Бонферрони).

Таким образом, проведённый анализ детей с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом позволяет заключить, что

1. Пик развития БИК приходится на возраст после 6 лет, в среднем на 10 лет, однако возможна манифестация и в период новорожденности. Диагностика гиперкортицизма запаздывает в среднем на 2,5 года с момента манифестации заболевания.
2. В 45% случаев БИК обусловлена микроаденомой гипофиза. Особенностью детской популяции является высокая частота отсутствия визуализации аденомы гипофиза по результатам инструментальных методов исследования (в 40% случаев).

3. Современные методы лечения (ХЛ и ЛЛ) могут быть как единственным методом терапии, так и применяться в комбинации при неэффективности одного из методов. Осложнения в виде выпадения тропных гормонов гипофиза чаще отмечены после ЛЛ, но развитие несахарного диабета отмечено только после ХЛ. Рецидивы заболевания зафиксированы как после ХЛ, так и после ЛЛ, однако после ХЛ развитие рецидива отмечено в более ранние сроки по сравнению с ЛЛ. Статистически значимых различий в достижении ремиссии заболевания и сроках развития рецидива в зависимости от МРТ-характеристик не выявлено.

3.2. Группа пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом

3.2.1. Клиническая характеристика

Количество пациентов. В исследование были включены 23 ребенка (16 девочек [70%], 7 мальчиков [30%])

Возраст пациентов. Средний возраст на момент манифестации составил 9,0 лет [1,0;13,0], на момент установления диагноза средний возраст составлял 12,7 лет [2,8;16,0]. Среднее время с момента появления первых клинических признаков до установления диагноза составило 1,9 лет [0,5;2,7].

При оценке пика заболеваемости по возрастам выявлено: двусторонняя пигментная нодулярная гиперплазия надпочечников - 8 лет [7;9], нодулярная

(непигментная) гиперплазия коры надпочечника – 1,0 год [0,1;2,0], аденома надпочечников - 13 лет [9;14], АКР – 5,9 лет [0,55;11,7].

Клинические проявления заболевания. Наиболее частыми клиническими проявлениями среди описанной группы пациентов являлись задержка роста (13/23 (56%)) в совокупности с прогрессирующей прибавкой массы тела и перераспределением подкожно-жировой клетчатки по кушингоидному типу (20/23 (87%)). Также практически в 70% случаев было выявлено развитие артериальной гипертензии (16/23 (69,6%)). Реже встречались такие проявления хронического гиперкортицизма, как головные боли (8/23 (35%)), различные нарушения углеводного обмена (5/23 (22%)), гипокалиемия (2/22 (9%)) и остеопороз (3/22 (14%)) (таблица 11)

3.2.2. Результаты лабораторных методов исследования

Данные об уровнях гормонального профиля на момент диагностики гиперкортицизма надпочечникового генеза представлены в таблице 11:
АКТГ утро 1,59 [1,0;4,6] пг/мл, кортизол утро 817,3 [561,0;1013,0] нмоль/л, АКТГ вечером 1,98 [1,0;6,0] пг/мл, кортизол вечером 764,5 [640,3;1060,0] нмоль/л, кортизол в суточной моче 1959,5 [929,5;3337,0] нмоль/сут.

Таблица 11. Основные клинические, лабораторно-инструментальные характеристики пациентов с гиперкортицизмом надпочечникового генеза

Показатели	**Me [Q1; Q3] или абс. и отн. частоты и их 95% ДИ**
Общая характеристика, n=23	
Пол (муж, %)	7 (30%)
Возраст манифестации, годы	9,0 [1,0;13,0]
Возраст установления диагноза, года	12,7 [2,8;16,00]

Среднее время до установления диагноза, годы	1,9 [0,5;2,7]
Возраст манифестации при ППУГН, года	8 [7;9], n=2
Возраст манифестации при МНГН, года	1,0 [0,1;2,0], n=6
Возраст манифестации при АН, года	13 [9;14], n=7
Возраст манифестации при АКР, года	5,9 [0,55;11,7], n=4
Гормональный профиль, n=21	
АКТГ(утро), пг/мл	1,59 [1,0;4,6], n=20
Кортизол (утро), нмоль/л	817,3 [561,0;1013,0]
АКТГ(вечер), пг/мл	1,98 [1,0;6,0], n=13
Кортизол (вечер), нмоль/л	764,5 [640,3;1060,0], n=16
Кортизол в суточной моче, нмоль/сут	1959,5 [929,5;3337,0], n=12
Клинические проявления, n=23	
Перераспределение ПЖК	20 (87%) [66;97]
SDS ИМТ	1,85 [0,24;3,4], n=19
Задержка роста	13 (56%) [35;77]
SDS роста	-1,84 [-2,8;-1,03], n=21
Головная боль	8 (35%) [16;57]
Артериальная гипертензия	16 (69%) [47;87]
Нарушения углеводного обмена	5 (22%) [7;44]
Остеопороз	3 (14%) [3;35], n=22
Гипокалиемия	2 (9%) [1;29], n=22
Образования надпочечников (после визуализирующих методов исследования), n=21	
Диффузная гиперплазия надпочечников	5 (24%) [8;47]
Одностороннее образование	12 (57%) [34;78]
Отсутствие визуализации	4 (19%) [5;42]
Образования надпочечников (после морфологического исследования), n=20	
Кортикостерома	7 (35%) [15,5;59]
Адренокортикальный рак	5 (25%) [9;49]

Узелковая гиперплазия	8 (40%) [19;64]

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3], качественных признаков - абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - (n,%), 95% ДИ.

Сокращения: ППУГН - первичная пигментная нодулярная гиперплазия надпочечников; МНГН - микронодулярная гиперплазия коры надпочечника; АН – аденома надпочечника; АКР - адренокортикальный рак; ПЖК – подкожно-жировая клетчатка; ИМТ – индекс массы тела.

3.2.3. Результаты инструментальных методов исследования

21 пациенту после лабораторного подтверждения АКТГ-независимого гиперкортицизма проводился инструментальный поиск образований надпочечников: 13 пациентам было выполнено КТ забрюшинного пространства с контрастным усилением, 4 пациентам - МРТ забрюшинного пространства с контрастным усилением, 2 пациентам - КТ и МРТ забрюшинного пространства с контрастным усилением, 2 пациентам было проведено УЗИ брюшной полости. По результатам инструментальных методов исследования у 24% пациентов (5/21) была выявлена диффузная гиперплазия обоих надпочечников, у 57% пациентов (12/21) было выявлено одностороннее объемное образование, у 19% пациентов (4/21) патологических образований, в том числе гиперплазии, обнаружено не было (табл 11). У пациентов с выявленным односторонним образованием надпочечника у 40% отмечались признаки злокачественности по результатам КТ/МРТ (4/10), 2 пациентом проведено УЗИ, в связи с чем не были получены полноценные данные о признаках злокачественности. У одного пациента данные с результатами проведенных инструментальных методов обследования не получены, у одного пациента получены данные о проведении МРТ после одностороннего удаления надпочечника.

Сравнительная характеристика пациентов представлена в таблице 12.

3.2.4. Радикальное лечение

Среди 21 пациентов у 5 была проведена лапаротомическая односторонняя адреналэктомия (24%), у 10 - лапароскопическая односторонняя адреналэктомия (48%), у 6 - лапароскопическая двусторонняя адреналэктомия (28%).

3.2.5. Результаты морфологического исследования

Данные о результатах морфологического исследования получены у 20 пациентов. У 40% (8/20) была выявлена узелковая гиперплазия обоих надпочечников, из них у 2 пациентов - пигментная нодулярная гиперплазия (25%), у 6 пациентов – нодулярная (непигментная) гиперплазия (75%). У 35% (7/20) - кортикостерома, а у 25% (5/20) – адренокортикальный рак. Двум пациентам проводилась адреналэктомия в других учреждениях, данных о морфологическом исследовании послеоперационного материала не получены, у одного пациента от проведения радикального лечения было решено воздержаться в связи с циклическим течения гиперкортицизма и хорошим ответом на консервативное лечение (табл 11)

У 16 пациентов возможно проведение сравнения инструментальной картины и результатов морфологического исследования. У 7 пациентов из 9 (78%) с односторонним образованием надпочечников предполагаемый потенциал опухоли (доброкачественный или злокачественный) совпал с результатом морфологического исследования, у 2 пациентов были получены только данные УЗИ, что не позволило полноценно определить потенциал злокачественности опухоли, у одного пациента по результатам морфологического исследования была выявлена аденома надпочечника, а у второго – карцинома. У двух пациентов с выявленной двусторонней гиперплазией надпочечников выявлена нодулярная (непигментная) гиперплазия надпочечников, а у одного - пигментная нодулярная гиперплазия надпочечников. У 4 пациентов по результатам инструментальных методов исследования патологии (в том числе гиперплазии) выявлено не было, из них у трех пациентов выявлена нодулярная (непигментная) гиперплазия

надпочечников, а у одного - пигментная нодулярная гиперплазия надпочечников.

Таблица 12. Характеристика пациентов в зависимости от кортизол-продуцирующего образования надпочечников, n=21

Группы	Группа 1 (n=7)	Группа 2 (n=5)	Группа 3 (n=3)	Группа 4 (n=6)	P
Манифестация, лет	13 [9;14]	11,11 [0,7;12,3]	7 [3;9]	1 [0,1;2]	0,049
Пол, м/ж	1/6	¼	2/1	3/3	0,28
Прибавка в весе	5 (71%) [29;96]	5 (100%) [48;100]	3(100%) [29;100]	5 (83%) [36;99]	
Замедление темпов роста	4 (57%) [18,5;90]	2 (40%) [5;85]	2 (67%) [9,5;99]	5 (83%) [36;99]	
Кортизол, утро нмоль/л	539 [402,4;817,3]	1003 [840;1131]	872 [669,2;1593]	752,7 [561;770] n=5	0,074
Кортизол, вечер нмоль/л	642,6 [568;654] n=5	1240 [776,7;1372] n=3	1258 [824;1692] n=2	878,6 [638;1030] n=5	0,065

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3], качественных признаков - абсолютными и относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - (n,%), 95% ДИ.

** ** Для сравнения групп использовались тест Краскела-Уоллиса (для количественных признаков), Хи-квадрат (для качественных признаков). Пороговый P=0,01 (после применения поправки Бонферрони)

Описание: Группа 1 – пациенты с аденомой надпочечника; группа 2 - пациенты с адренокортикальным раком; группа 3 - пациенты с двусторонней пигментной нодулярной гиперплазией надпочечников; группа 4 - пациенты с нодулярной (непигментной) гиперплазией коры надпочечника.

Таким образом, проведённый анализ детей с АКТГ-независимым гиперкортицизмом позволяет заключить, что

1. В детском возрасте отмечается различие возрастной структуры заболеваний надпочечников. На период младенчества и раннего детства (до 3 лет) приходится пик развития микронодулярной гиперплазии коры надпочечников, на период до 9 лет - двусторонней пигментной нодулярной гиперплазии надпочечников, а у детей старше 9 лет - аденомы надпочечников (табл 11). Пик выявления адренокортикального рака приходится на период раннего детства и на период старше 6 лет. Диагностика гиперкортицизма запаздывает в среднем на 2 года с момента манифестации заболевания.
2. В данной группе пациентов более чем в 50% случаев, помимо основных клинических проявлений (прибавка массы тела и задержка роста) отмечено развитие артериальной гипертензии.
3. Практически в 20% случаев по результатам инструментальных методов не удается выявить объемные образования надпочечников (в том числе гиперплазию). Во всех случаях по результатам морфологического исследования выявлены различные варианты узелковых гиперплазий.
4. У всех пациентов с имеющимся полноценным описанием МРТ и КТ предполагаемый потенциал опухоли (доброкачественный или злокачественный) совпал с результатом морфологического исследования.

3.3. Особенности мультистероидного профиля пациентов с эндогенным гиперкортицизмом

В исследование были включены 41 пациент с патологией надпочечников, наблюдавшихся в период с 2005г по 2020г в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Все пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от нозологического диагноза: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7]], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома, СК) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным изолированным адренархе [n=23]. Группа пациентов с преждевременным адренархе была выбрана как группа сравнения, учитывая тот факт, что клинические проявления преждевременного пубархе входят в дифференциально-диагностический ряд как объемных образований надпочечников, так и гиперкортицизма.

В 1 и 2 группе всем пациентам проведено хирургическое лечение с последующим патоморфологическим исследованием удаленных образований. В 1 группе пациентов патоморфологически был подтвержден диагноз кортикотропиномы, во 2 группе у одного пациента выявлена микронодулярная гиперплазия коры надпочечника, у троих пациентов - кортикостерома надпочечника. Хирургического лечения и патоморфологического исследования в группе пациентов с инциденталомами надпочечников не проводилось. Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в таблице 13.

Таблица 13. Характеристика групп пациентов, n = 41

	Группа 1 (пациенты с БИК) n=7	**Подгруппа 2 (пациенты с СК) n=4**	**Группа 3 (пациенты с инциденталомой) n=7**	**Группа 4 (пациенты с адренархе) n=23**
Возраст на момент обследования	10,3[7,15;17]	15,5[8,375;16,55]	15,67[10,61;16,7]	7,25[6,6;8,42]
SDS роста	-0,06[-0,88;0,59]	-1,53[-2,49;-0,15]	-0,22[-0,31;1,11]	1,25[0,82;1,77]

SDS ИМТ	2,46[1,17;3,52]	0,045[-0,55;1,88]	0,27[-0,94;0,45]	0,7[-0,24;1,74]
АКТГ (утро), пг/мл	55,3[45,38;73,04]	1,3[1,215;1,425]	40,56[21,9;59,2]	22,91[18,18;24,98] N=21
Кортизол (утро), нмоль/л	816[673,4;970]	915,15[609,85;1099,5]	545,5[356,8;908,1]	511,5[376,45;547,85] N=12
Кортизол после малой пробы с дексаметазоном, нмоль/л	99,84[84,4;257,2]	520,2[73;1062] N=3	23,85[14,67;42,12]	
ДГЭА-С, мкмоль/л	5,36[3,87;7,26] N=4	0,945[0,818;1,49]	6,75[2,27;9,31]	3,395[2,33;5,05] N=22

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3].

При анализе мультистероидного профиля выявлены различия на уровне статистических тенденций. Отмечены более высокие уровни 11-дезоксикортизола в группе пациентов с кортикостеромами (p=0,0035, пороговый p=0,0025 после применения поправки Бонферрони), уровни 11-дезоксикортизола в группе пациентов с кортикотропиномами статистически значимо не отличались от групп с инциденталомами надпочечников и преждевременным адренархе (рис 4).

По показателям 17-гидроксипрегненолона при сравнении между группами отмечается статистически значимые более низкие уровни данного показателя в группе кортикостером при сравнении с группой инциденталом надпочечника (p=0,0026). Уровни 17-гидроксипрегненолона в группе пациентов с кортикотропиномами статистически значимо не отличались от группы пациентов с преждевременным адренархе, самые высокие уровни данного показателя отмечены в группе пациентов с инциденталомами надпочечников (рис 5). Аналогичный результат получен при оценке уровня дегидроэпиандростерона (ДГЭА) в группах. В группе пациентов с кортикостеромами отмечаются статистическая тенденция к более низким уровням ДГЭА по сравнению с группой инциденталом надпочечника (p=0,0047) (рис 6). Все показатели мультистероидного профиля приведены в таблице 14.

Таблица 14. Стероидный профиль групп пациентов

Показатель	Группа 1 (пациенты с БИК) N=7 (6,5-17,6л)	Группа 2 (пациенты с СК) N= 4 (1,95-16,9л)	Группа 3 (пациенты с инциденталомой) N=7 (9,50-17л)	Группа 4 (пациенты с адренархе) N=23 (3,7-9,0л)	P
Прогестерон, нмоль/л	0,14[0,1;0,3]	0,45[0,055;13,95]	0,4[0,186;0,64]	0,275[0,2;0,47] N=22	0,31
17-гидроксипрегненолон, нмоль/л	5,29[2,6;8,14]	0,71[0,55;1,46]	12,8[7,95;15]	6,36[2,5;9,5] N=19	**0,006** P1-2=0,21 P1-3=0,57 **P2-3=0,0026** P1-4=1,00 P2-4=0,057 P3-4=0,47
Дегидроэпиандростерон, нмоль/л	6,2[3,2;23,4]	1[0,45;2,13]	17,5[10,06;32,4]	7,62[5,9;14,7]	**0,0102** P1-2=0,14 P1-3=1,0 **P2-3=0,0047** P1-4=1,00 P2-4=0,052 P3-4=0,69
17-ОН прогестерон, нмоль/л	1,2[0,546;1,8]	2,2[1;10,3]	2,7[1,8;4,05]	0,79[0,6;1,79]	0,0201
Альдостерон, пмоль/л	104[76,7;150]	70[40;474]	275[110;410]	220[100;420] N=19	0,079
11-дезоксикортизол, нмоль/л	2,3[1,42;4,75]	14,69[4,84;22,85]	2,6[1,5;3,4]	1,2[0,65;2,49]	**0, 0035** P1-2=0,51 P1-3=1,0

					P2-3=0,77 P1-4=0,55 **P2-4=0,0053** P3-4=0,29
21-дезоксикортизол, нмоль/л	0,118[0,01;0,3]	0,085[0,04;0,395]	0,02[0,01;0,43]	0,01[0,01;0,1]	0,3
Дезоксикортикостерон, нмоль/л	0,2[0,1;0,3]	0,505[0,3;1,105]	0,185[0,1;0,46] N=6	0,1[0,01;0,34] N=17	0,24
Кортизон, нмоль/л	86,55[80;89,1] N=6	75[72,8;120] N=3	73[72,2;76] N=5	69,7[68;79] N=10	0,32
Прегненолон, нмоль/л	1,35[0,573;5] N=6	0,625[0,6;2,1] N=6	2,44[2,05;2,63] N=5	3,4[1,4;4,6] N=10	0,45
Кортикостерон, нмоль/л	9,65[3,5;11]	4,3[2,69;12,4]	11,3[8,1;73,1]	5,735[3,1;15] N=22	0,09
Кортизол, нмоль/л	486[405;610]	695[470,5;780]	403[320;670]	250[191;400]	**0,0022**

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3].
** Для сравнения групп использовались тест Краскела-Уоллиса. Пороговый P=0,0025 (после применения поправки Бонферрони)

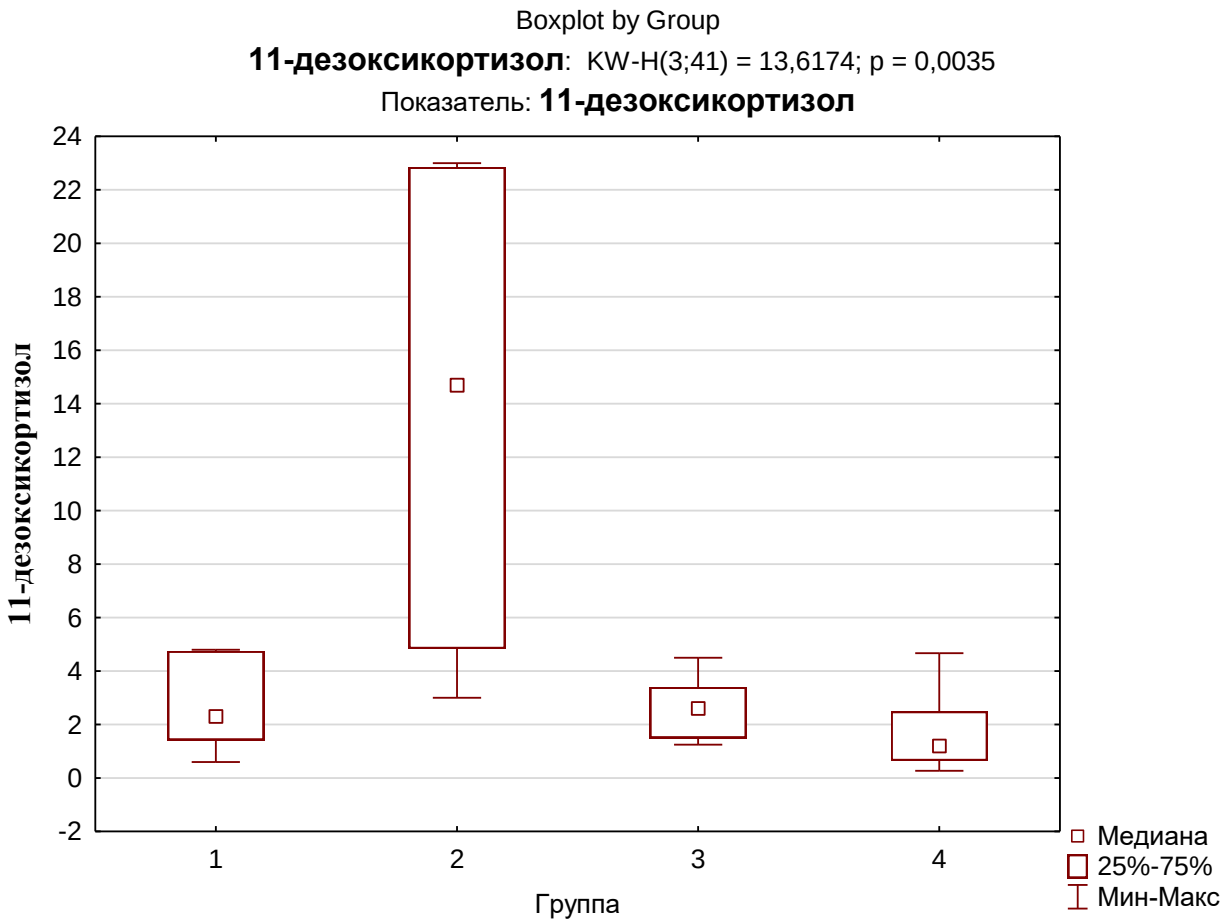

Рисунок 4. Распределение уровней 11-дезоксикортизола по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=23].

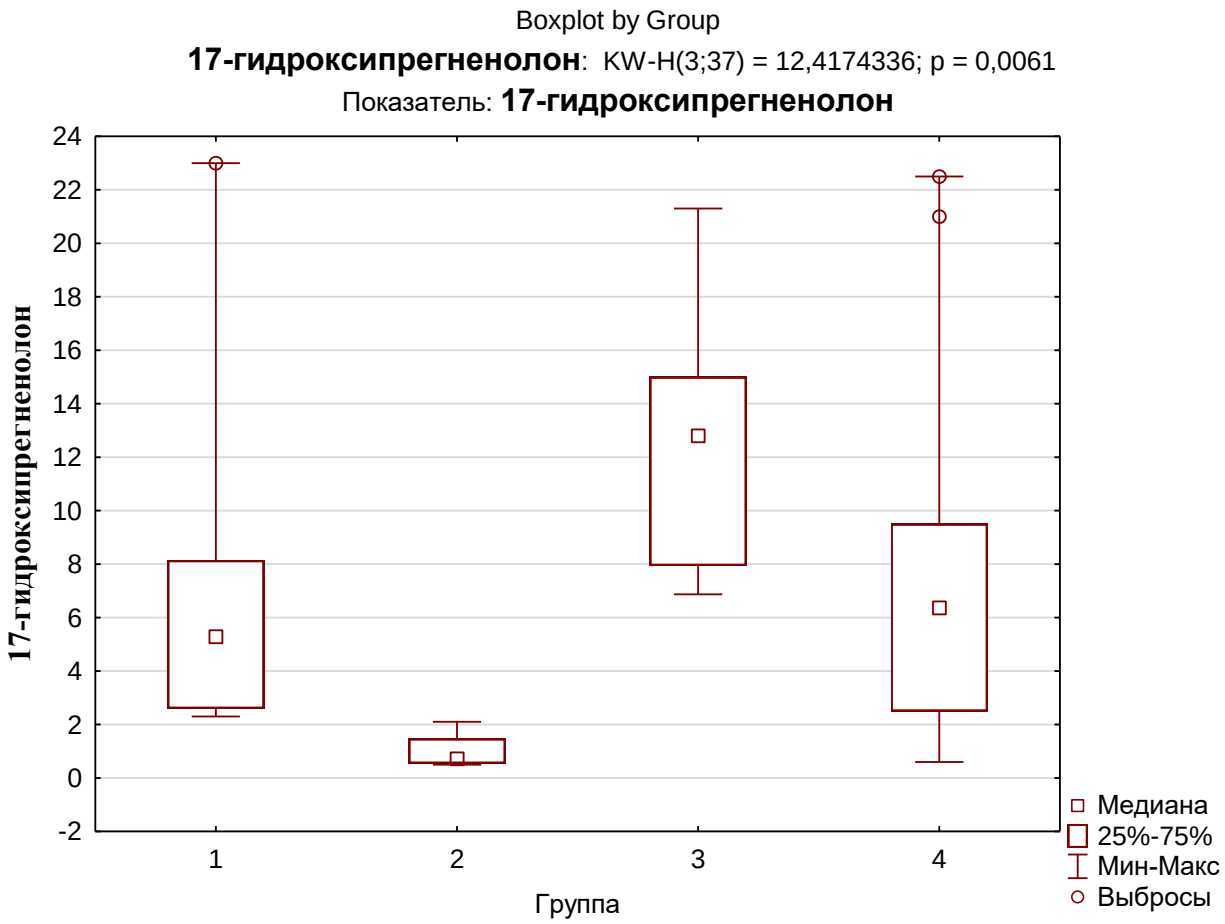

Рисунок 5. Распределение уровней 17-гидроксипрегненолона по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=19].

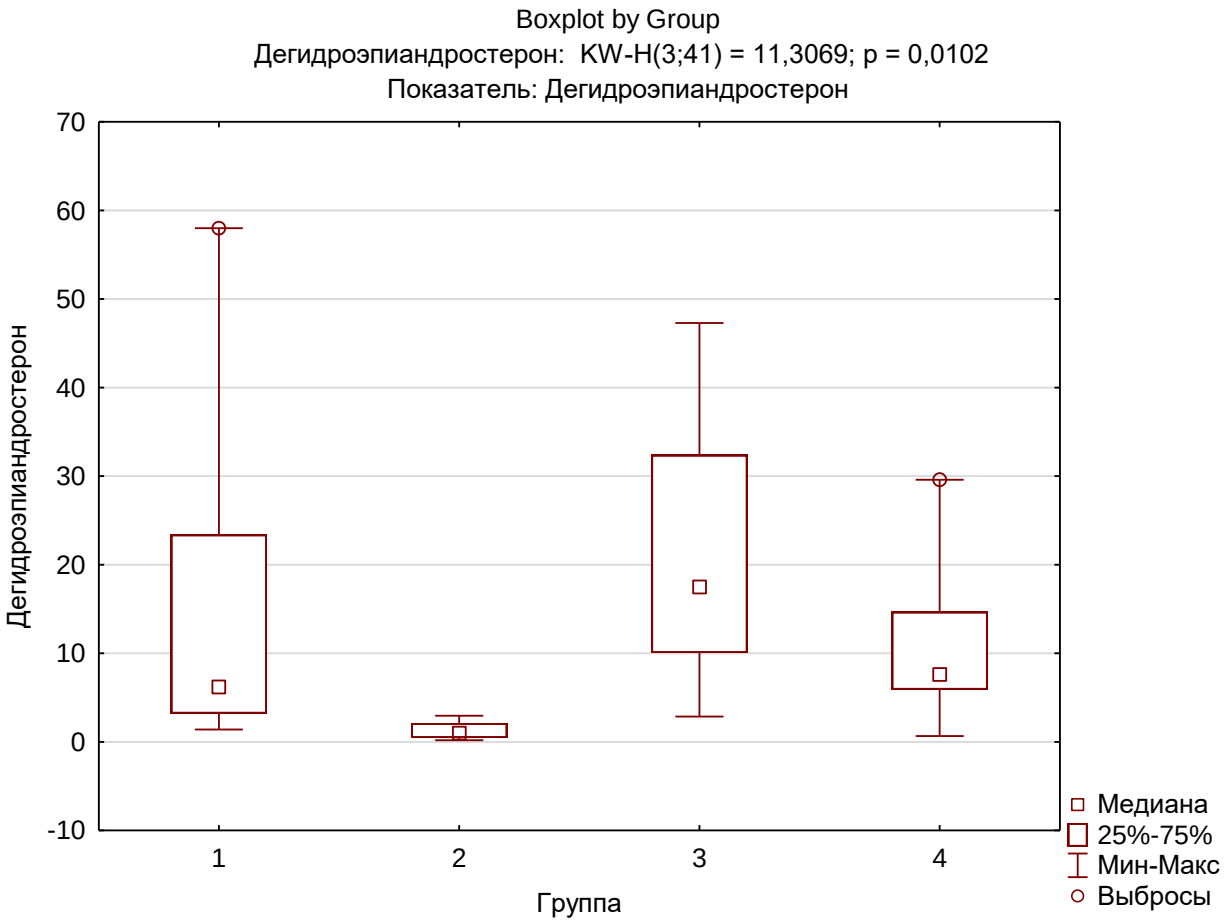

Рисунок 6. Распределение уровней дегидроэпиандростерона по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=23]

Для оценки степени активности ферментов стероидогенеза проводилось сравнение соотношений стероидов к их предшественнику. Статистически значимых различий между группами выявлено не было, выявлены различия на уровне статистических тенденций.

Соотношение кортизол/11-дезоксикортизол и кортикостерон/дезоксикортикостерон ниже в группе пациентов с кортикостеромами, что может свидетельствовать о снижении активности 11-бета-гидроксилазы. Статистически значимых различий соотношений кортизол/11-дезоксикортизол и кортикостерон/ дезоксикортикостерон в других группах не выявлено (рис 7 и 8).

Соотношение 11-дезоксикортизол/17-гидроксипрогестерон и дезоксикортикостерон/прогестерон, свидетельствующие об активности фермента 21-гидроксилазы, ниже в группах пациентов с инциденталомами надпочечников и адренархе по сравнению с группами с гиперкортицизмом различного генеза (рис 9,10).

При оценке ферментативной активности 17α-гидроксилазы выявлено, что соотношение 17-гидроксипрегненолон/прегненолон ниже в группе пациентов с кортикостеромами по сравнению с другими группами, статистически значимых различий соотношения ДГЭА/17-гидроксипрегненолон между группами не выявлено (рис 11,12). Также выявлено статистически значимое повышение соотношения 17-гидроксипрогестерон/17-гидроксипрегненолон в группе пациентов с кортикостеромами, что, возможно, косвенно связано со сниженной секрецией 17-гидроксипрегненолона вследствие низкой 17α-гидроксилазной активности (рис 13).

Статистически значимые различия в группах не выявлены, возможно, в связи с малым количеством пациентов в группах. Все показатели представлены в таблице 15.

Таблица 15. Сравнительная оценка соотношений стероидов к их предшественнику

Показатель	**Группа 1 (пациенты с БИК) N=7 (6,5-17,6л)**	**Группа 2 (пациенты с СК) N= 4 (1,95-16,9л)**	**Группа 3 (пациенты с инциденталомой) N=7 (9,50-17л)**	**Группа 4 (пациенты с адренархе) N=23 (3,7-9,0л)**	**P**
Кортизол/11-дезоксикортизол	177,42 [127,083;342,25]	37,48 [34,114;133,78]	170,88 [141,83;322,4]	209,89 [160;294,12]	p = 0,12
Кортикостерон/Дезоксикортикостерон	50,3 [35;58,485]	10,96 [7,14;22,76]	95,125 [80,873;125,5] N=6	61 [18;140] N=17	**p= 0,029** P1-2=0,3 P1-3=1,0 P1-4=1,0 **P2-3=0,02** P2-4=0,08 P3-4=1,0
Прогестерон/Прегненолон	0,155 [0,059;0,24] N=6	21,6 [0,0167;43,36] N=2	0,096 [0,09;0,23] N=5	0,088 [0,0378;0,18] N=10	p = 0,97
17-гидроксипрогестерон/17-гидроксипрегненолон	0,21 [0,087;0,316]	3,683 [0,893;13,6]	0,18 [0,14;0,36]	0,16 [0,1097;0,27] N=19	**p=0,019** **P1-2=0,036** P1-3=1,0 P1-4=1,0 P2-3=0,14 **P2-4=0,013** P3-4=1,0
11-дезоксикортизол/17-гидроксипрогестерон	2,6 [1,85;3]	5,8 [2,33;12,5]	0,96 [0,38;2,26]	1,27 [0,93;1,714]	**p=0,0049** P1-2=1,0 **P1-3=0,04** **P1-4=0,016** P2-3=0,28 P2-4=0,26 P3-4=1,0
Дезоксикортикостерон /Прогестерон	1 [0,67;1,43]	3,5625 [1,07;7,5]	0,588 [0,19;1,022]	0,4 [0,03;1] N=21	p =0,12

ДГЭА/17-гидроксипрегненолон	2,38 [0,66;4,36]	1,283 [0,367;2,86]	1,4 [0,95;2,22]	1,315 [0,84;2,47] N=19	p =0,82
17-гидроксипрегненолон/прегненолон	7,64 [1,118;11,575] N=6	1 [1;1,33] N=3	6,63 [4,687;6,93] N=5	2,87 [1,26;4,56] N=10	p =0,12

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3].
** Для сравнения групп использовались тест Краскела-Уоллиса. Пороговый P=0,0025 (после применения поправки Бонферрони)

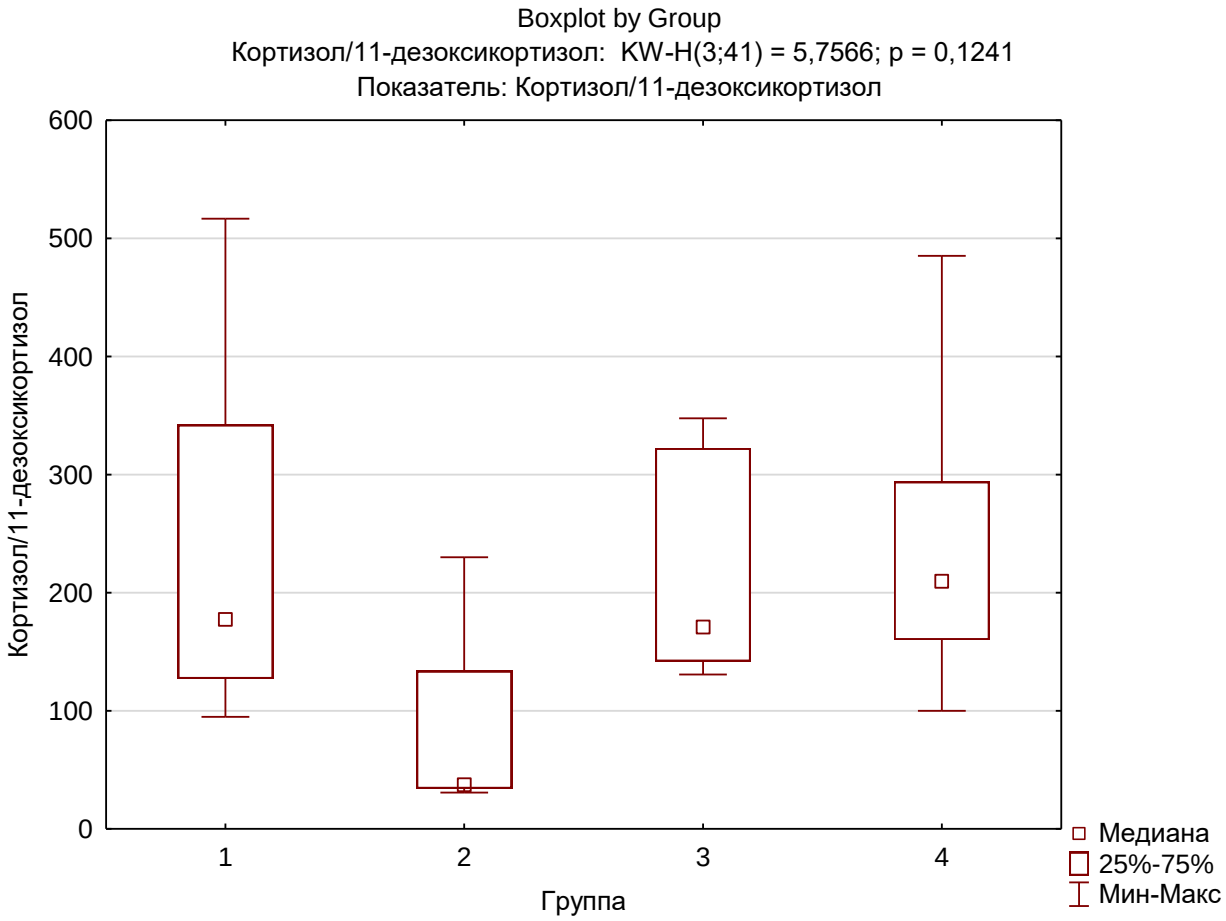

Рисунок 7. Соотношение кортизол/11-дезоксикортизол по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=23].

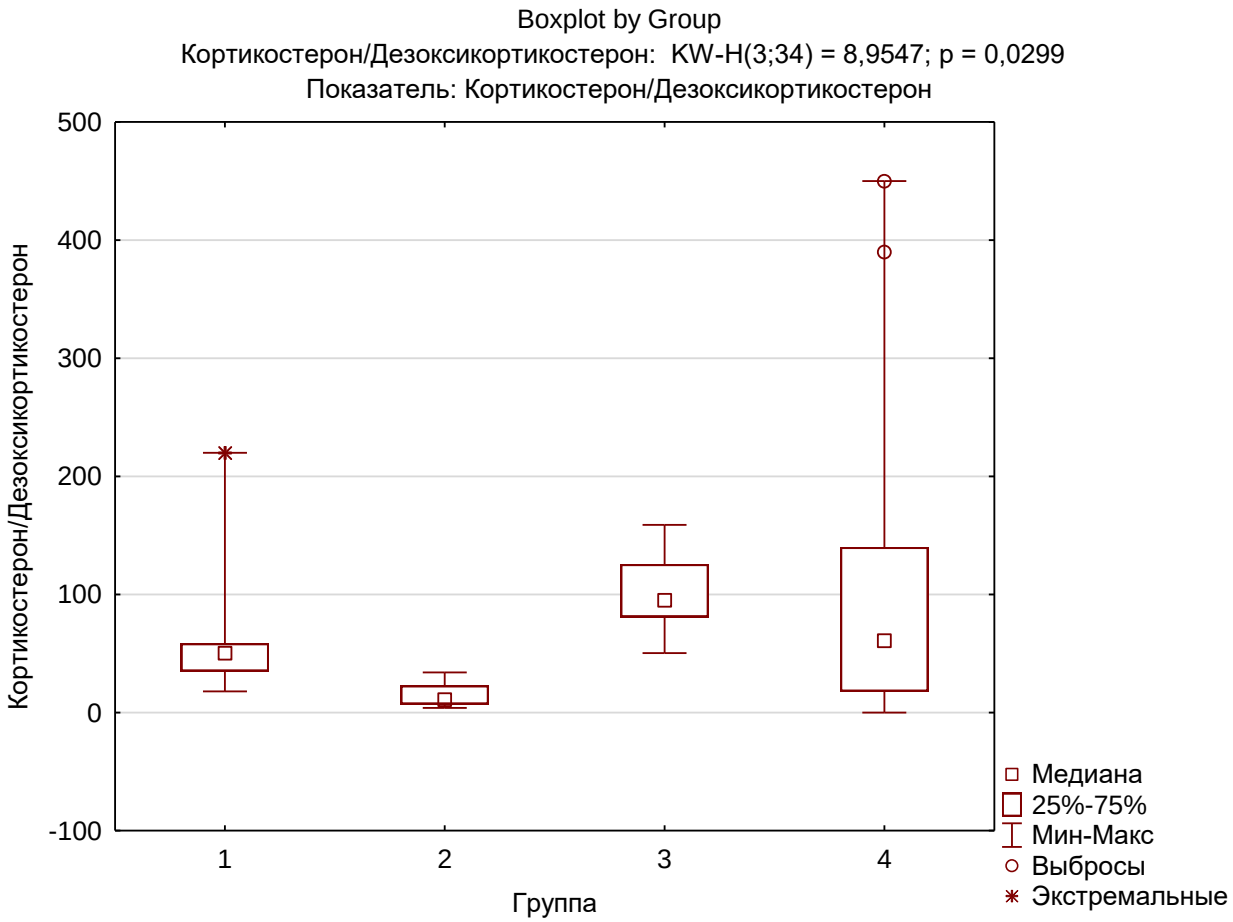

Рисунок 8. Соотношение кортикостерон/дезоксикортикостерон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=6], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=17].

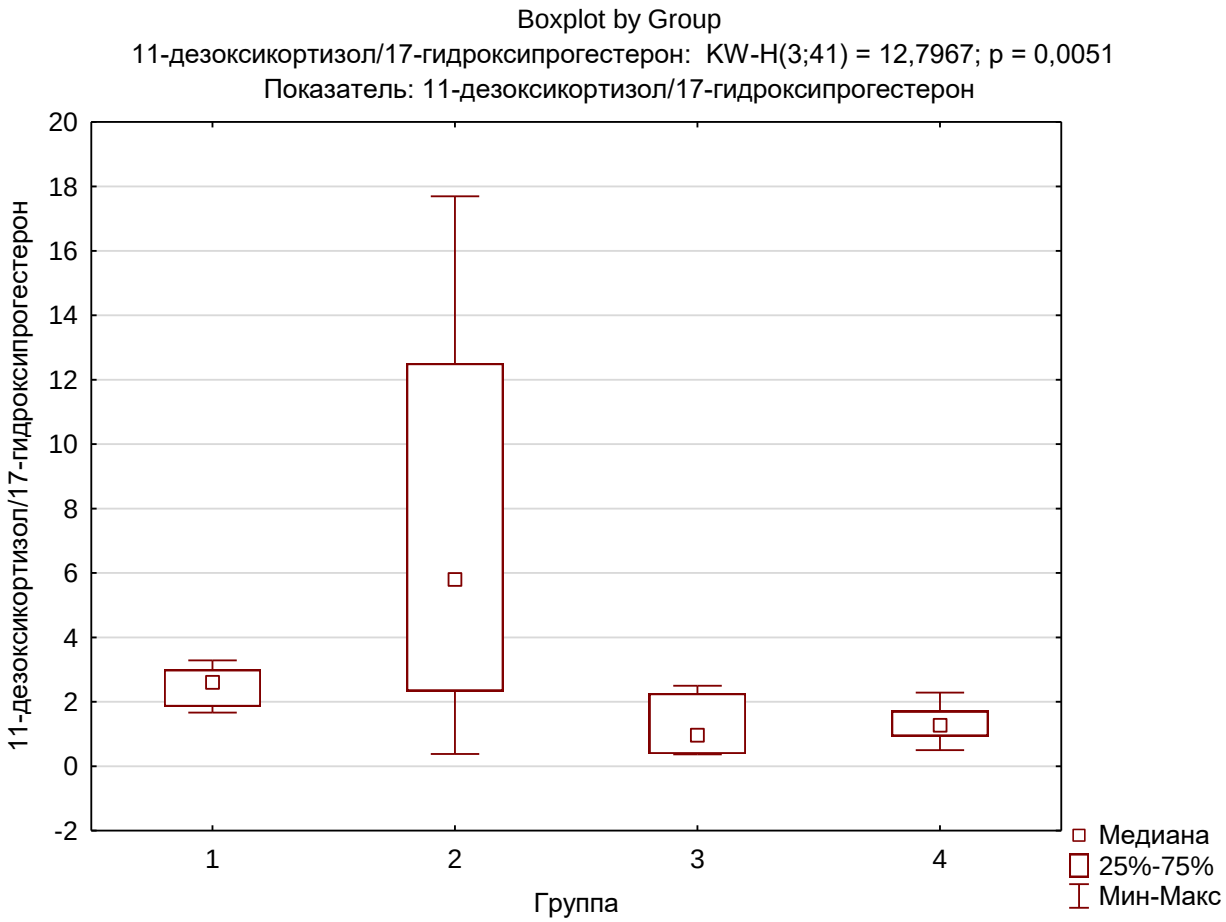

Рисунок 9. Соотношение 11-дезоксикортизол/17-гидроксипрогестерон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=23].

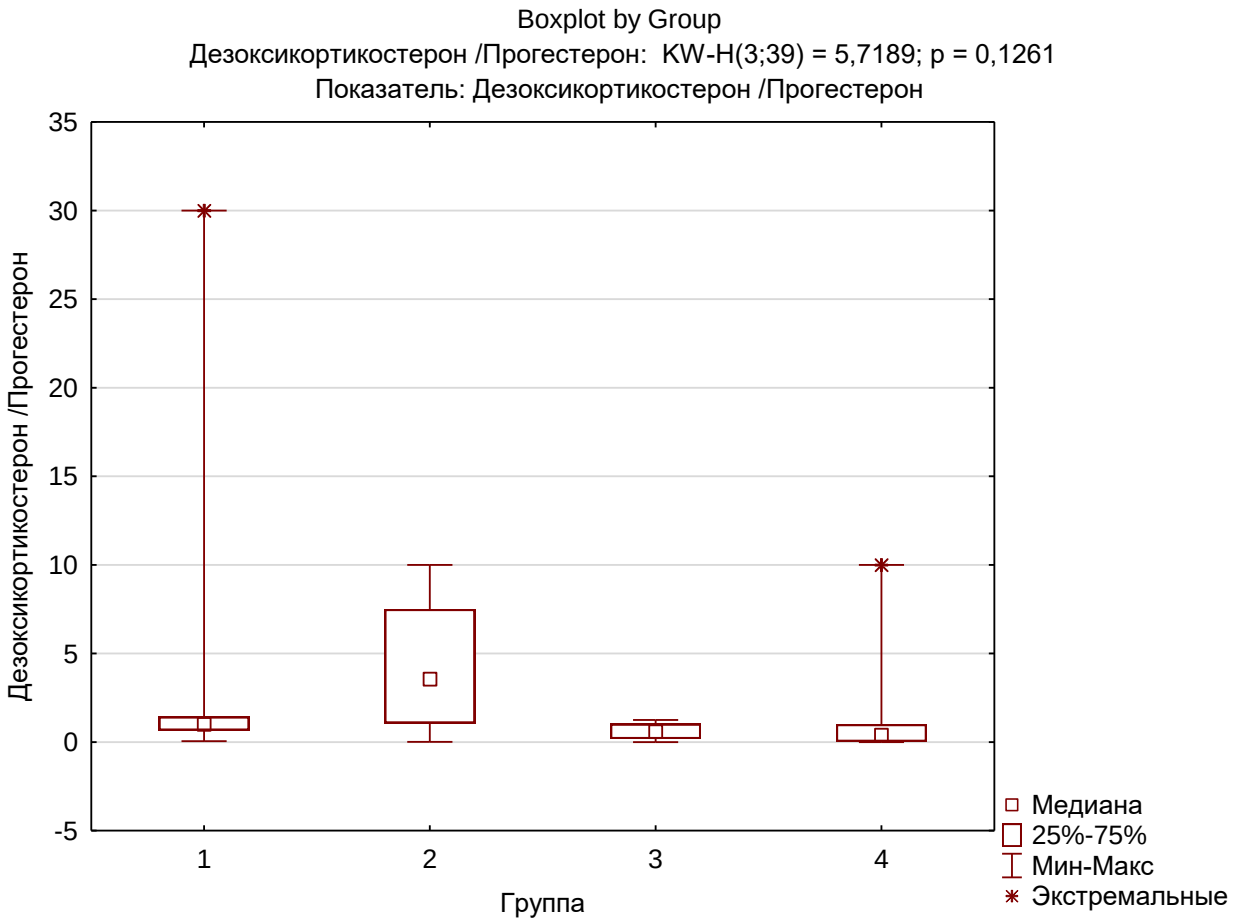

Рисунок 10. Соотношение Дезоксикортикостерон /Прогестерон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=21].

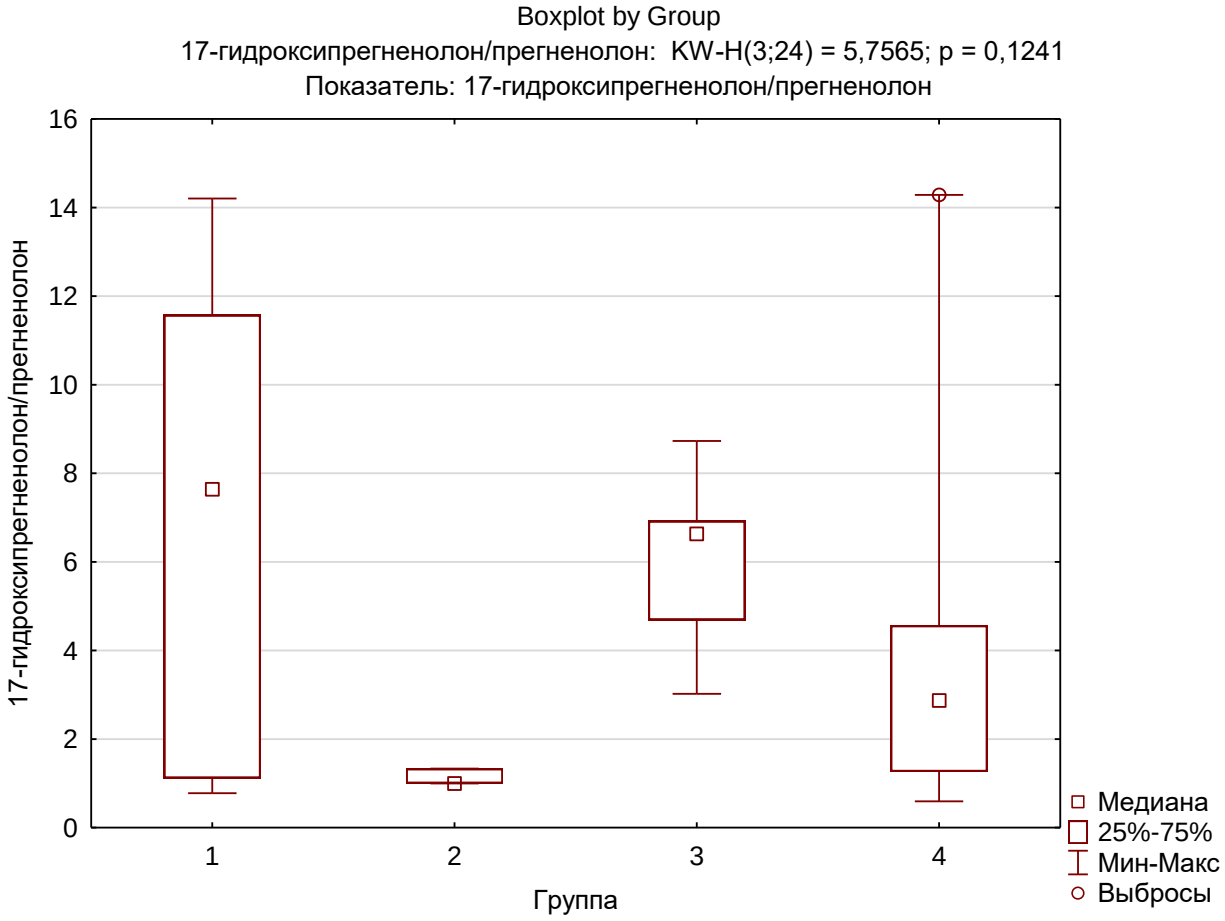

Рисунок 11. Соотношение 17-гидроксипрегненолон/прегненолон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=6], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=3], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=5], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=10].

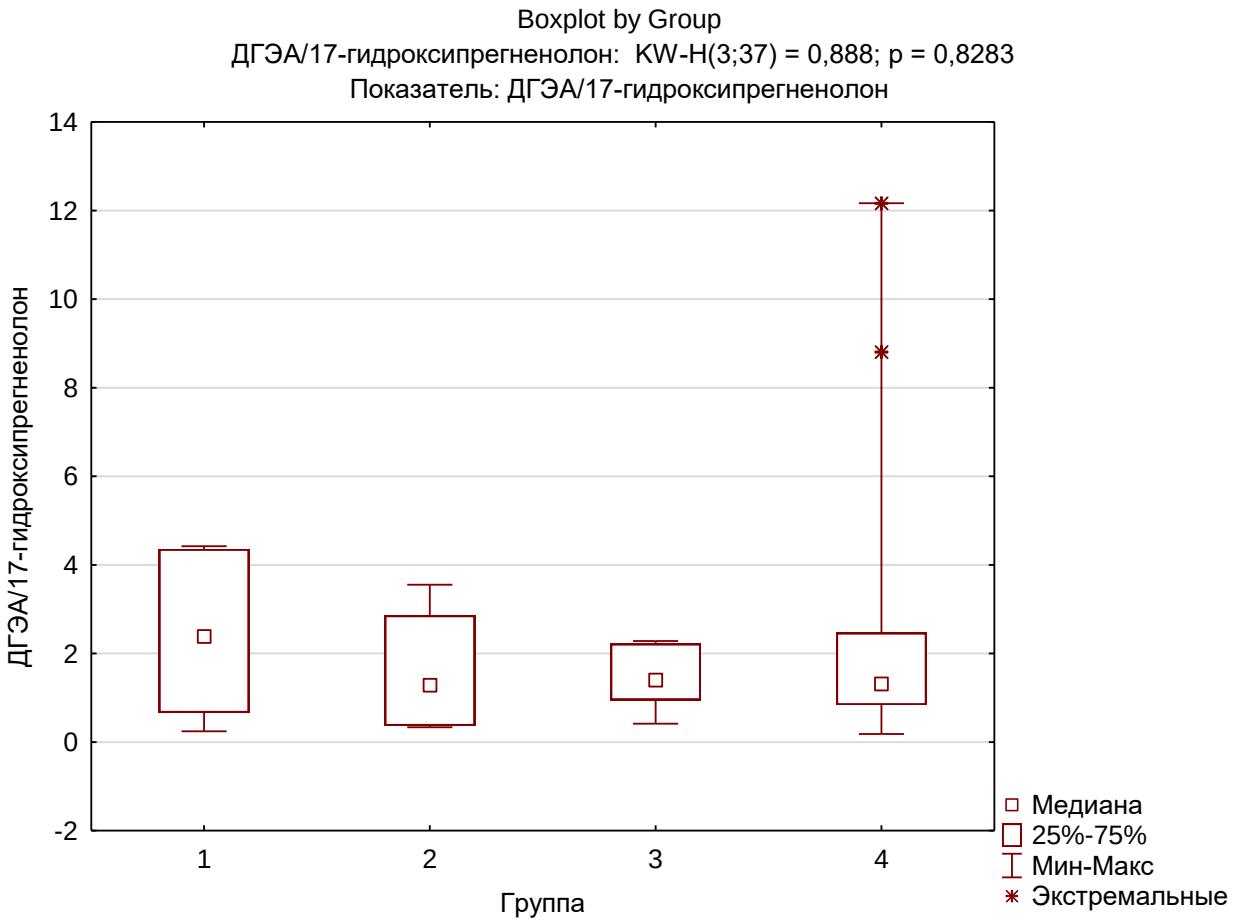

Рисунок 12. Соотношение ДГЭА/17-гидроксипрегненолон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=19].

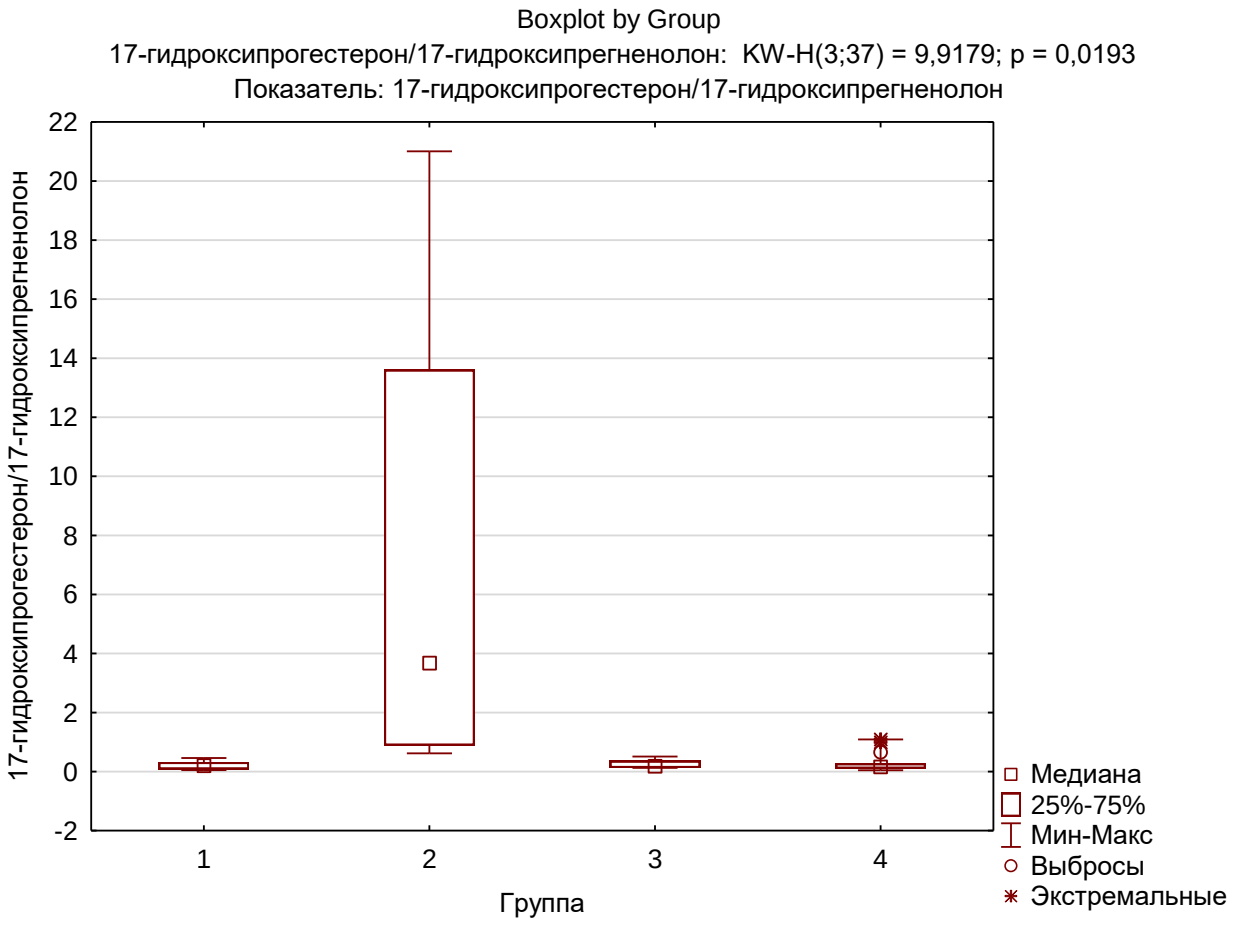

Рисунок 13. Соотношение 17-гидрогсикопрогестерон/17-гидроксипрегненолон по группам: 1 группа – пациенты с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом (кортикотропиномы) [n=7], 2 группа – пациенты с АКТГ-независимым гиперкортицизмом (кортикостерома) [n=4], 3 группа- пациенты с инциденталомой надпочечников [n=7], 4 группа - пациенты с преждевременным адренархе [n=19].

Таким образом, по результатам исследования мультистероидного профиля у детей с заболеваниями надпочечников в нашем исследовании выявлены особенности, отличающие кортикостеромы как от АКТГ-зависимого гиперкортицизма, так и от инциденталом надпочечника. Эти особенности заключаются в повышении уровня 11-дезоксикортизола и снижении уровня 17-гидроксипрегненолона и ДГЭА. Также в нашем исследовании соотношение 17-гидроксипрегненолон/прегненолон оказалось ниже в группе пациентов с кортикостеромами по сравнению с другими группами, что может свидетельствовать о низкой 17α-гидроксилазной активности. При этом статистически значимых различий соотношения ДГЭА/17-гидроксипрегненолон между группами не выявлено, что может свидетельствовать о сохранной 17,20-лиазной активности фермента 17-гидроксилазы.

Еще одной особенностью, характеризующей активность ферментов стероидогенеза у пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом, является тенденция к повышению активности 21-гидроксилазы.

Все различия выявлены на уровне статистических тенденций, статистически значимые различия в группах не вычислены, возможно, в связи с малым количеством пациентов в группах.

3.4. Молекулярно-генетическое исследование

3.4.1. АКТГ-зависимый гиперкортицизм

35 пациентам с БИК проводилось молекулярно-генетическое исследование: поиск мутаций в генах *MEN1, DICER1* при выявлении других компонентов синдрома, по панели, включающей в себя гены *AIP, CASR, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2C, CDKN2D, DICER1, GNAS, CDC73, MEN1, POU1F1, PRKAR1A, PRKCA, PTTG2, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD.*

У 4 пациентов были выявлены мутации в гене *MEN1* (11%). У одного пациента за все время наблюдения кортикотропинома была единственным выявленным компонентом синдрома, у двух пациентов – при манифестации гиперкортицизма по результатам обследования был выявлен гиперпаратиреоз и аденомы паращитовидных желез, у одного пациента кортикотропинома была первым компонентом, гиперпаратиреоз был выявлен при динамическом наблюдении.

У одного пациента выявлена мутация в гене *DICER1,* БИК манифестировал до 1 года жизни вместе с другим компонентом синдрома (дисплазия верхней доли правого легкого).

Рецидивов АКТГ-зависимого гиперкортицизма ни у одного пациента не зафиксировано. Характеристики пациентов и компонентов синдромов представлены в таблице 16.

У 30 пациентов по результатам молекулярно-генетического исследования патологически значимых мутаций выявлено не было.

Таблица 16. Характеристика пациентов с молекулярно-генетической патологией при АКТГ-зависимом гиперкортицизме

Пациент	Ген	Вариант	Клиническая значимость	Описана/впервые выявлена	Возраст манифестации	Визуализация	Другие компоненты/особенности
1	*MEN1*	c.1350+1_1350+11del	Патогенный	Не описан	10,1 лет	Микроаденома	17,4 лет – гиперпаратиреоз, аденомы ПРЩЖ; 18,3 лет - НЭО ПЖ
2	*MEN1*	c.241_244del p.A81TfsX37	Вероятно патогенный	Не описан	9 лет	Микроаденома	Других компонентов синдрома не выявлено
3	*MEN1*	c.1546del p.R516GfsX43	Патогенный	Описан	13 лет	Микроаденома	15,6 лет – при обследовании по поводу кортикотропиномы - гиперпаратиреоз, аденомы ПРЩЖ + НЭО ПЖ (випома)
4	*MEN1*	c.1646del p.P549QfsX10	Вероятно патогенный	Не описан	10	Микроаденома	13,5 лет – при обследовании по поводу кортикотропиномы -

							аденомы ПРЩЖ, гиперпаратиреоз
5	*DICER1*	c.597T>A p.C199X	Патогенный	Не описан	6 мес	Бластома гипофиза (24x26x24 мм)	2 мес - фиброзно-кистозная дисплазия верхней доли правого легкого

Образцы ДНК крови и удаленной ткани для проведения молекулярно-генетического исследования (полноэкзомное секвенирование) для поиска соматических мутаций были доступны у 14 пациентов с БИК (таблица 19).

У 3 пациентов из 14 (21%) выявлены соматические мутации в гене *USP8*. Характеристика мутаций представлена в таблице 17.

Таблица 17. Характеристика выявленных соматических мутаций в гене *USP8* (NM 005154.5).

Экзон	Вариант	Клиническая значимость	Описана/впервые выявлена
14	c.1990G>A p.G664R	Вероятно патогенный	Не описан
14	c.2155_ 2157del p.S719del	Вероятно патогенный	Описан при кортикотропиномах
18	c.2901C>A p.C967X	Неясная клиническая значимость	Не описан

У 1 пациента из 3, имеющих мутацию *USP8,* по результатам инструментальных методов исследования выявлена макроаденома гипофиза, у одного пациента размер аденомы более 9 мм, а у третьего пациента размер аденомы не превышал 5 мм. У пациентов без мутаций макроаденомы не фиксировались. Проведена сравнительная характеристика группы пациентов с мутацией в гене *USP8* и без (таблица 18). Выявлена статистическая тенденция к большим размерам аденомы гипофиза у пациентов с мутацией в гене *USP8* (p=0,038, пороговый p=0,02). Рецидив заболевания ни у одного

пациента не зафиксирован. Анализа частоты рецидива в группах проведено не было, в связи с малым количеством данных и коротким временем наблюдения.

Таблица 18. Описательная статистика и сравнение пациентов с мутацией в гене *USP8* и без выявленных соматических мутаций.

Показатель	**Группа 1** **n=3**	**Группа 2** **n=11**	**P**
Возраст манифестации, года	15,2 [11,4; 16,8]	13,5 [12,5; 16,9]	1,0
Пол, м/ж	2/1	2/9	0,17
АКТГ утро	63,6 [33,5;65,7]	64,7[40;115,6]	0,600
Кортизол утро	655,4 [615;989,7]	815,8[635;961]	0,884
Размер аденомы, мм	9,0 [5,0;13,5]	2,5 [0,0;6,0]	**0,038**

*Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3].

** Для сравнения групп по количественным признакам использовался тест Манна-Уитни.

*** Пороговый p=0,02 (после применения поправки Бонферрони)

Таблица 19. Характеристика группы пациентов, которым проводился поиск соматических мутаций (n=14)

Пациенты	Возраст манифестации, лет	Размер аденомы на МРТ	АКТГ, утро	Кортизол, утро	АКТГ, вечер	Кортизол, вечер	Кортизол, моча	Длительность наблюдения - рецидив
1	10	Неоднородность	40,0	600,0	70,00	630,00	1400,00	1 год после ЛЛ
2	16	Микроаденома (3х4мм)	19,7	903,7	18,90	377,10	1057,50	1,6 лет после ХЛ
3	11	Микроаденома (4х3мм)	77,0	635,0	107,00	789,00	16780,00	2,8 лет после ХЛ
4	13	Микроаденома (4х4х6 мм)	115,6	815,8	75,00	648,70	2736,00	2,2 года после ХЛ
5	9	Макроаденома (7,3х13,5х9 мм)	63,6	989,7	57,40	522,10	2129,80	2,1 года после ХЛ
6	16,7	Микроаденома (7х9х8,5 мм)	55,1	961,0	48,00	815,50	1593,60	1,6 лет после ХЛ

7	9	Микроаденома (6,5х9х6мм)	33,5	615,0	63,00	682,00	688,50	2,6 лет после ХЛ
8	11	Микроаденома (до 5 мм)	65,7	655,4	59,80	675,50	1329,00	5,6 лет после ХЛ
9	14,2	Неоднородность (2.5х1.5 мм)	64,7	712,7	71,98	681,10	703,80	5,2 года после ХЛ
10	12,4	Неоднородность (2.5х1.5 мм)	157,0	1750,0				5,7 лет после ХЛ
11	7,0	Микроаденома (5х7х5,5)	46,9	32,8	593,0	643,8	2238,0	1 год после ХЛ
12	5,0	Неоднородность	97,0	126,0	1530,0	1370,0	1877,0	3,9 лет после ХЛ
13	8,0	Неоднородность		42,0	624,0	529,0		6,5 лет после ХЛ

14	12,0	Неоднородность		112,0	945,0	955,0	951,0	6,3 года после ХЛ

Таким образом, по результатам проведенного молекулярно-генетического исследования герминативные мутации выявлены в 14% случаев (5/35), из них в 80% случаев выявлены мутации в гене *MEN1*. Во всех случаях АКТГ-зависимый гиперкортицизм был первым клиническим проявлением синдрома. Соматические мутации в гене *USP8* выявлены в 20% случаев (3/14), патологических мутаций в других генах не выявлено. В группе пациентов с мутацией в гене *USP8* выявлена тенденция к большим размерам аденомы (у одного пациента - макроаденома гипофиза, у одного пациента размер аденомы достигал 9 мм), в группе пациентов без мутации – макроаденом не зафиксировано (только у 1 пациента из 14 размер аденомы достигал 9 мм). Статистически значимых различий в размерах аденомы и степени гормональной гиперпродукции не выявлено, что возможно связано с малым количеством пациентов в выборке. Рецидивов эндогенного гиперкортицизма ни у одного пациента не зафиксировано.

3.4.2. АКТГ-независимый гиперкортицизм

Молекулярно-генетическое исследование проведено 12 пациентам. Характеристика пациентов представлена в таблице 20.

У 4 пациентов был подтвержден Карни-комплекс (выявлены мутации в гене *PRKAR1A)* (таблица 21). По результатам обследования у 4 пациентов были выявлены различные варианты узелковых гиперплазий надпочечников, у 1 пациента – аденома надпочечника. У 2 пациентов отмечено циклическое течение гиперкортицизма.

У 4 пациентов клинически установлен диагноз синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева, молекулярно-генетически подтвержден у 1 пациента (таблица 21). У всех пациентов манифестация заболевания отмечена до возраста 1 года. 3 пациентам проведена двусторонняя адреналэктомия, у одного пациента компенсация заболевания отмечена после односторонней адреналэктомии. По результатам морфологического исследования у всех пациентов выявлена микронодулярная гиперплазия коры надпочечника.

Также у одного пациента с адренокортикальным раком выявлена мутация неопределенной клинической значимости в гене *MET* (таблица 21).

У 2 пациентов с односторонним образованием надпочечника (1 – с адренокортикальным раком, 1- с кортикостеромой) проводилось молекулярно-генетическое исследование (гены *AIP, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2C, DICER1, GNAS, MEN1, POU1F1, PRKAR1A, PRKACA, PTTG2, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, TP53),* мутаций не выявлено. У 9 пациентов данных о проведенном молекулярно-генетическом исследовании не получено, из них 1 пациент с узелковой гиперплазией надпочечников, 5 пациентов с кортикостеромой и 3 пациента с адренокортикальным раком.

Таблица 20. Характеристика пациентов с молекулярно-генетической патологией при АКТГ-независимом гиперкортицизме, n=10.

Пациент	Возраст манифестации	Парадоксальный подъем на пробе с дексаметазоном	Визуализация	Лечение	Гистологическое исследование	Другие компоненты/особенности
1	9 лет	Да	Двусторонняя диффузная гиперплазия	двусторонняя лапароскопическая адреналэктомия	пигментная узелковая гиперплазия надпочечников	миксома правого предсердия, одноузловой эутиреоидный зоб, микрокальцитаны яичек, объемное образование правого яичка, кожно-сизистый лентигиноз, голубые невусы
2	9 лет	Нет	Объемное образование правого надпочечника, левый надпочечник – диффузная гиперплазия	лапароскопическая правосторонняя адреналэктомия	Аденома надпочечника	кожно-слизистый лентигиноз, кальцинаты тестикул, врожденная аномалия развития сосудов левой почки, вазоренальная артериальная гипертензия
3	2 года	Да	Без структурной патологии	двусторонняя лапароскопическая адреналэктомия	Микронодулярная двусторонняя	Циклическое течение гиперкортицизма. Фокальная нодулярная гиперплазия печени.

					гиперплазия надпочечников	
4	3 года	Нет	Двусторонняя диффузная гиперплазия	Не проводилось	Не проводилось	Циклическое течение гиперкортицизма (компенсирована на фоне консервативной терапии)
5	7 лет	Да	Без структурной патологии	Левосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 13,4 лет Правосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 13,9 лет	Первичная пигментированная узловая адренокортикальная болезнь (дисплазия)	
6	1 месяц	Нет	Двусторонняя диффузная гиперплазия	Правосторонняя лапароскопическая адреналэктомия	Нодулярная гиперплазия надпочечников	Пятна цвета «кофе-с-молоком, СТГ-гиперсекреция, рецидивирующие эстрогенпродуцирующие кисты яичников, диффузные изменения щитовидной железы, полиоссальная фиброзная дисплазия, гипофосфатемия.

7	1 год	Нет	Двусторонняя диффузная гиперплазия	Правосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 4 года Левосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 5,5 лет	Микронодулярная пигментная дисплазия надпочечников	Пятна цвета «кофе-с-молоком, гиперсекреция СТГ, преждевременное половое развитие (вторичное гонадотропинзависимое), левосторонний макроорхидизм, полиоссальная фиброзная дисплазия
8	1 год	Нет	Незначительное утолщение ножки правого надпочечника	Правосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 2 года Левосторонняя лапароскопическая адреналэктомия – 2,2 года	Микронодулярная гиперплазия коры надпочечника	Гиперсекреция СТГ; полиоссальная фиброзная дисплазия
9	1 месяц	Нет	Двусторонняя диффузная гиперплазия	двусторонняя адреналэктомия	Микронодулярная гиперплазия коры надпочечника	Пятная цвета "кофе-с-молоком", полиоссальная фиброзная дисплазия

10	11,1 лет		Образование левого надпочечника	Левосторонняя лапаротомическая адреналэктомия	Адренокортикальная карцинома левого надпочечника, классического строения, 8 баллов по шкале Wieneke; pT3NxM1	Метастазирование в печень, левое легкое + гиперандрогения

Таблица 21. Характеристика выявленных мутаций при АКТГ-независимом гиперкортицизме.

Пациент	Ген	Вариант	Клиническая значимость	Описана/впервые выявлена
1	*PRKAR1A*	c.489_490insTG p.V164WfsX2	Вероятно патогенный	Не описан
2	*PRKAR1A*	c.1111_1112insC p.Q370fsX11	Вероятно патогенный	Не описан
4	*PRKAR1A*	c.455delC p.M153CfsX12	Вероятно патогенный	Не описан
5	*PRKAR1A*	c.2T>C p.M1T	Вероятно патогенный	Не описан
7	*GNAS*	p.R201C	Патогенный	Описан
10	*MET*	c.2747A>G p.N916S	Неясная клиническая значимость	Не описан

Таким образом, в подавляющем большинстве случаев эндогенный гиперкортицизм, обусловленный гиперпродукцией глюкокортикоидов надпочечниками, встречается в составе синдромов множественных неоплазий, а именно Карни-комплекса и синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (67%), гиперкортицизм у этих пациентов в большинстве случаев был обусловлен различными вариантами узелковых гиперплазий (87%).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Особенности клинико-инструментальных данных

Проведенное нами исследование позволяет заключить, что у детей младше 6 лет причиной эндогенного гиперкортицизма чаще являются объемные образования надпочечников (аденомы, карциномы или различные варианты гиперплазии надпочечников). В первые годы жизни чаще всего диагностируется микронодулярная гиперплазия надпочечников, в подавляющем большинстве случаев в составе синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. С возраста 7-10 лет чаще выявляется двусторонняя пигментная нодулярная гиперплазия надпочечников (до 60% случаев в составе Карни-комплекса). На детский возраст с момента рождения также приходится пик выявляемости АКР [6]. Результаты, полученные на нашей выборке пациентов, не отличаются от данных литературы. В возрасте до 3 лет пик приходится на микронодулярную гиперплазию коры надпочечников и АКР, до 10 лет – на двустороннюю пигментную нодулярную гиперплазию надпочечников, старше 10 лет на аденомы надпочечников.

У детей старше 6 лет причиной гиперкортицизма чаще являются аденомы гипофиза (кортикотропиномы) [2]. Исключение составляют бластомы гипофиза, которые манифестируют до первого года жизни. Аденомы надпочечников также чаще встречаются в более старшем возрасте [2,6]. Возраст манифестации БИК колебался от 8 до 12 лет, средний возраст манифестации - 10 лет, из группы только у одного ребенка с выявленной мутацией в гене *DICER1*, БИК манифестировал до 6 месяцев.

Самым главным клиническим отличием течения гиперкортицизма у детей от взрослых является прибавка массы тела в совокупности с замедлением темпов роста/задержкой роста [2]. В группе пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом и АКТГ-зависимым гиперкортицизмом в подавляющем большинстве случаев выявлялись задержка роста (56% и 67% соответственно) и прибавка массы тела (87% и 96% соответственно). Самым частым осложнением хронического гиперкортицизма по результатам исследования является артериальная гипертензия, в группе пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом развитие артериальной гипертензии отмечено в 70% случаев. Другие клинические проявления в виде нарушений углеводного обмена, остеопороза, гипокалиемии встречаются гораздо реже. Результаты представлены в таблицах 2 и 11.

По данным литературы, во взрослой и детской популяции наиболее часто размеры кортикотропином не превышают 10 мм (микроаденомы), частота выявления макроаденом не превышает 10-20% [34, 128, 129]. Отличием

детской популяции также является высокий процент случаев отсутствия визуализации аденомы гипофиза, по данным некоторых исследований, до 50% случаев по результатам МРТ описывается неизмененный или диффузно неоднородный гипофиз [28, 29,30]. Полученные данные в нашей группе пациентов также совпадают с данными литературы: у 45% пациентов (44/97) была выявлена микроаденома гипофиза (<10 мм), у 15% пациентов (14/97) размеры аденомы превышали 10 мм (макроаденома), у 40% пациентов (39/97) признаков аденомы обнаружено не было. Различий в клинико-лабораторных характеристиках гиперкортицизма в зависимости от размера аденомы выявлено не было.

При отсутствии визуализации аденомы по результатам МРТ или размере образования менее 5 мм проводился селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином, по результатам которого у всех пациентов был установлен центральный генез гиперкортицизма, подтвержденный морфологическим исследованием. У 90% пациентов латерализация опухоли по результатам забора не совпала с локализацией опухолевой ткани по описанию хирургического вмешательства (отмечалось мультифокальное расположение опухоли).

При подтверждении АКТГ-независимого гиперкортицизма по результатам инструментальных методов в 20% случаев не удается выявить объемные образования надпочечников (в том числе гиперплазию). Во всех случаях по результатам морфологического исследования выявлены различные варианты узелковых гиперплазий.

4.2 Анализ особенностей течения и результаты лечения кортикотропином

При выявлении кортикотропиномы первым этапом лечения является аденомэктомия, при которой ремиссия наступает, по разным источникам, в 70-90% случаев [23-27]. На показатели эффективности, помимо хирургической методики и квалификации хирурга, влияет визуализация аденомы, ее размер и инвазия в синусы [128-133]. Во взрослой популяции, даже при достижении ремиссии после удаления аденомы, частота рецидива заболевания достигает 25% [32,33]. При возникновении рецидива возможно проведение повторного оперативного лечения, эффективность которого снижается до 50-70% [24,25,32,33], или проведение лучевого лечения, что в 90-95% случаев приводит к ремиссии заболевания [23-25]. В нашей группе пациентов ремиссия после хирургического лечения была достигнута в 71% случаев, что совпадает с данными литературы.

При отсутствии ремиссии после хирургического лечения или возникновении рецидива возможно проведение повторного оперативного лечения, эффективность которого снижается, по данным различных источников, до 50-70% [23,28,31,32,33]. В нашей группе пациентов после повторной аденомэктомии ремиссия гиперкортицизма была достигнута у 73% пациентов (8/11). При неэффективности повторного хирургического лечения или нецелесообразности/невозможности его проведения прибегают к лучевому лечению, в 90-95% случаев приводящему к длительной ремиссии заболевания [23-25,31]. В нашем исследовании, в связи с тем, что до 2006г протонная терапия являлась методом выбора лечения при отсутствии визуализации аденомы, пациенты, получившие ЛЛ, разделились на 2 подгруппы: первая - получившие ЛЛ на первом этапе лечения и вторая подгруппа – получившие ЛЛ вторым этапом после неэффективности хирургического лечения. Ремиссия была достигнута в 85% случаев в 1 подгруппе (23/27) и в 100% случаев во 2 подгруппе (6/6). Статистически значимых различий в частоте достижения ремиссии заболевания в зависимости от размера аденомы выявлено не было (табл 4).

При достижении ремиссии во взрослой популяции частота рецидива заболевания может достигать 25% [32,33]. В связи с небольшими выборками при исследованиях БИК у детей частота рецидивов колеблется от 0 до 20% [28-31]. В нашей группе пациентов общая частота рецидива составила 11% (10/90), после ХЛ рецидив был зафиксирован в 14% случаев (8/55), после ЛЛ – в 5% (2/36).

В связи с высокой частотой развития рецидива и невозможности достижения ремиссии заболевания ведется активный поиск и анализ предикторов развития рецидива и ремиссии.

Влияние размера аденом гипофиза на длительность ремиссии и вероятность развития рецидива достаточно неоднозначны. В ряде ретроспективных исследований у пациентов с микроаденомами в большем проценте случаев достигалась ремиссия заболевания, тогда как у пациентов с макроаденомой чаще не удавалось достигнуть ремиссии и развивался рецидив [131,134-136]. Противоположные данные были получены в ряде других исследований, где частота достижения ремиссии у пациентов с микроаденомами не отличилась от пациентов с макроаденомами [27,137,138].

Было предположено, что отсутствие визуализации аденомы по данным МРТ является неблагоприятным признаком, однако, по данным ряда исследований, не было выявлено связи между визуализацией аденомы по

данным МРТ и частотой достижения ремиссии и возникновения рецидива после аденомэктомии [24,34,128,139].

Ряд исследователей отмечают зависимость частоты наступления ремиссии не столько от размера, сколько от наличия инвазивного роста опухоли, однако эти данные противоречивы. По некоторым данным, инвазивный рост опухоли являлся важнейшим фактором, влияющим на вероятность наступления ремиссии [27,130 -133]. При этом в ряде других исследований такой зависимости обнаружено не было [31,128].

По результатам Lonser RR et al. предикторами длительной ремиссии у детей являлись маленький размер аденомы с отсутствием инвазии [28]. Также были получены данные, совпадающие с работами ряда других исследователей, что утренние уровни кортизола и АКТГ в раннем послеоперационном периоде являются на данный момент самыми важными факторами, ассоциированными с развитием рецидива либо сохранением длительной ремиссии [134,135,140].

Мы не получили статистически значимых различий в достижении ремиссии заболевания и вероятности рецидива заболевания в зависимости от размера кортикотропином. Влияние инвазии на вероятность возникновения рецидива не оценивали в связи с малым количеством имеющихся данных. Выявлена статистически значимая разница в сроках развития рецидива в зависимости от проведенного лечения, у пациентов после хирургического лечения отмечен рецидив заболевания в более ранние сроки по сравнению с пациентами, получившими лучевое лечение, что может быть связано с более длительным периодом достижения ремиссии после лучевой терапии. Также выявлена связь между сроком развития рецидива гиперкортицизма и развитием надпочечниковой недостаточности после проведенного лечения. Среди пациентов с гипокортицизмом, развившимся после хирургического лечения, рецидив заболевания возникал в более ранние сроки по сравнению с пациентами, у которых уровень кортизола после операции снижался до референсных значений (средний срок – 2,65 лет и 3,56 лет соответственно, p=0,04, лог-ранговый тест, пороговый P=0,05). Можно предполагать, что развитие гипокортицизма приводит к более выраженной стимуляции гипоталамо-гипофизарной системы, что возможно, приводит к стимуляции оставшихся опухолевых клеток, и, следовательно, более раннему проявлению рецидива заболевания. Найденная корреляция не позволяет расценивать развитие гипокортицизма в послеоперационном периоде как предиктор длительного безрецидивного течения заболевания.

При анализе эндокринных осложнений после проведенного лечения получено статистически значимое более частое развитие СТГ-дефицита и вторичного гипогонадизма у пациентов после проведенного лучевого лечения по сравнению с хирургическим лечением. Несахарный диабет развивался только у пациентов после ХЛ (табл 10).

4.3 Особенности мультистероидного профиля

На настоящее время ведущим методом диагностики являются иммунологические методы, основанные на взаимодействии антигенов и антител, которые используются для определения уровня гормонов и множества других показателей [141]. Данный метод исследования имеет высокую чувствительность и специфичность, однако имеет несколько существенных недостатков при патологии надпочечников: определение неправильной концентрации определяемого стероида из-за наличия перекрестных реакций меченых антител с соединениями, близкими к нему по строению; невозможность определить одновременно несколько стероидов; отсутствие антисывороточных антигенов ко всем метаболитам стероидов [142].

Масс-спектрометрия (МС) представляет собой физико-химических метод анализа, в основе которого лежит генерирование ионов из молекул или атомов исследуемых веществ и разделение их по величинам отношения массы иона к его заряду в электрических или электрических и магнитных полях. Этот метод позволяет сделать вывод о молекулярной массе исследуемого вещества, его составе и структурных особенностях [143]. В сочетании с газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографией (ГХ-МС и ВЭЖХ-МС) масс-спектрометрия становится методом количественного анализа сложных смесей. Так, метод ГХ-МС получил широкое распространение, в том числе, для определения стероидного профиля мочи (СПМ) [144-146]. Данный диагностический метод устраняет недостатки иммунологических методов исследования, однако требует существенных временных затрат, связанных со сложным и трудоёмким процессом пробоподготовки, длительным аналитическим циклом для каждого образца и весьма трудоёмким процессом обработки полученных данных [145]. Метод определения стероидных гормонов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) в настоящее время является одним из основных диагностических методов изучения стероидогенеза [147,148] и играет важную роль в дифференциальной

диагностике различных видов объемных образований надпочечников, исключения и уточнения генеза эндогенного гиперкортицизма.

Одним из самых специфичных показателей для диагностики эндогенного гиперкортицизма по данным исследований мультистероидного профиля у взрослых пациентов оказался непосредственный предшественник кортизола - 11-дезоксикортизол [7,8,149-152]. В норме АКТГ стимулирует переход холестерина в прегненолон в митохондриях клеток коры надпочечников, а дальнейший путь, кроме последних ступеней стероидогенеза, происходит в эндоплазматическом ретикулуме [153]. Фермент 11β-гидроксилаза катализирует конверсию 11-дезоксикортизола в кортизол и дезоксикортикостерона в кортикостерон [154].

В исследовании Eisenhofer et al. было включено 84 пациента с подтвержденным эндогенным гиперкортицизмом (51 пациент с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом центрального генеза (кортикотропиномы), 21 пациент с образованиями надпочечников с гиперсекрецией кортизола (кортикостеромы), 12 пациентов с АКТГ-эктопированным синдромом). По результатам исследования мультистероидного профиля предшественники кортизола и альдостерона, 11-дезоксикортизол и дезоксикортикостерон, были статистически значимо выше у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом любого генеза по сравнению с группой контроля ($p<0,0001$) [8]. Аналогичные данные были получены в исследовании Dalmazi et al., в которое были включены 302 пациента (98 пациентов с автономной гиперсекрецией кортизола (кортикостерома), 204 пациента с инциденталомой надпочечника), уровни 11-дезоксикортизола и дезоксикортикостерона были статистически значимо выше в кортикостеромах ($p=0,023$ и 0,047 соответственно) [149].

По результатам исследований повышение уровня 11-дезоксикортизола также являлся специфичным для адренокортикального рака (АКР) [150,151]. В исследовании Taylor et al. были включены 48 пациентов (из них 10 пациентов с АКР, 7 -с кортикостеромой, с феохромоцитомами/параганглиомами – 15 пациентов, с инциденталомой надпочечника - 16) и уровни 11-дезоксикортизола был статистически значимо выше у пациентов с АКР ($p<0,005$) [150], а в исследовании Schweitzer et al. были включены 108 пациентов (из них с АКР 42 пациента, с кортикостеромой - 24, с инциденталомой - 42), уровни 11- дезоксикортизола также статистически значимо были выше у пациентов с АКР ($p<0,01$), как и уровни дезоксикортикостерона ($p<0,001$) [151].

По результатам исследования по анализу мультистероидного профиля у детей, в которое были включены 8 детей (4 пациента с АКР, 4 пациента с доброкачественным образованием надпочечника, у всех пациентов была выявлена гиперандрогения), уровни 11-дезоксикортизола и дезоксикортикостерона были повышены у всех пациентов [152], с послеоперационным восстановлением нормальных значений. По результатам этого исследования авторы статьи делают вывод о возможности использовать уровень 11-дезоксикортизола для диагностики объемных образований надпочечников, но не для дифференциальной диагностики АКР и аденом надпочечников.

В нашей группе пациентов выявлена статистическая тенденция к более высоким уровням 11-дезоксикортизола в группе пациентов с кортикостеромами, но не у пациентов с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом. Также выявлено снижение соотношения кортизол/11-дезоксикортизол в группе пациентов с кортикостеромами, однако статистически значимой разницы выявлено не было, что может быть связано с маленьким количеством пациентов в группах. Можно предположить, что достоверное повышение уровня 11-дезоксикортизола при АКТГ-независимом гиперкортицизме по сравнению с АКТГ-зависимым вариантом, при сопоставимости уровня кортизола в этих группах, свидетельствует о возможном механизме субстрат-зависимого подавления активности фермента 11β-гидроксилазы в отсутствие стимуляции АКТГ.

Еще одним специфичным маркером по данным исследований являются андрогены. По данным литературы у взрослых пациентов с гиперкортицизмом надпочечникового генеза выявлялись статистически значимые более низкие уровни андрогенов (андростендиона, ДГЭА и ДГЭА-С) по сравнению как с другими вариантами гиперкортицизма, так и с инциденталомами [7,149].

По результатам нашего исследования у пациентов с кортикостеромами также отмечались сниженные уровни 17-гидроксипрегненолона и ДГЭА по сравнению с группой пациентов с инциденталомами надпочечников ($p=0,0026$ и $p=0,0047$ соответственно), и аналогичная статистическая тенденция по сравнению с группами пациентов с преждевременным адренархе ($p=0,057$ и $p=0,052$ соответственно), которая, однако, не достигала статистической достоверности, но не с группой пациентов с АКТГ-зависимым гиперкортицизмом ($p=0,21$ и $p=0,14$ соответственно).

Снижение андрогенов при гиперкортицизме надпочечникового генеза связывают с низким уровнем АКТГ при данной патологии, который является главным стимулирующим фактором для всех ферментов стероидогенеза. Можно предполагать, что отсутствие стимуляции сетчатой зоны коры надпочечников в условиях подавленного АКТГ приводит в первую очередь к снижению активности 17α-гидроксилазы. Действительно в нашем исследовании соотношение 17-гидроксипрегненолон/прегненолон оказалось ниже в группе пациентов с кортикостеромами по сравнению с другими группами, что может свидетельствовать о низкой 17α-гидроксилазной активности. При этом статистически значимых различий соотношения ДГЭА/17-гидроксипрегненолон между группами не выявлено, что может свидетельствовать о сохранной 17,20-лиазной активности фермента 17-гидроксилазы.

Еще одной особенностью, характеризующей активность ферментов стероидогенеза у пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом, является тенденция к повышению активности 21-гидроксилазы.

Таким образом, по результатам исследования мультистероидного профиля у детей с разными заболеваниями надпочечников в нашем исследовании выявлены особенности, характерные для кортикостером в отличии как от АКТГ-зависимого гиперкортицизма, так и от инциденталом надпочечника. Эти особенности заключаются в повышении уровня 11-дезоксикортизола и снижении уровня 17-гидроксипрегненолона и ДГЭА. Эти особенности стероидного профиля кортикостером могут служить дополнительным дифференциально-диагностическим критерием.

4.4 Молекулярно-генетические особенности

4.4.1 АКТГ-зависимый гиперкортицизм

Подавляющее большинство аденом гипофиза как у детей, так и у взрослых,

являются спорадическими случаями, но менее чем в 5% случаев они могут встречаться при ряде наследственных синдромов, что нужно учитывать при выявлении БИК у детей [43]. Чаще всего у пациентов выявляется синдром МЭН1, частота выявления других синдромов значимо реже. На нашей выборке пациентов, которым проводилось молекулярно-генетическое исследование (38), у 4 пациентов выявлена мутация в гене *MEN1* (11%), и у 1 пациента в гене *DICER1*.

По результатам последних исследований выяснилось, что из всех соматических мутаций активирующие мутации в гене *USP8* в кортикотропиномах встречаются в 30-60% случаев, как среди взрослых

пациентов, так и среди детей [4]. Соматические мутации *USP8* ассоциированы с формированием микроаденом с высокой секрецией АКТГ и повышенным риском рецидивов [3,43,5,85]. В нашей группе пациентов проводился поиск соматических мутаций в ткани кортикотропином и в 21% случаев выявлены мутации в гене *USP8* (3/14). При анализе клинико-лабораторных особенностей пациентов, несущих мутацию в гене *USP8*, статистически значимых различий в размере аденомы и секреции АКТГ не выявлено, однако у 1 пациента из 3 по результатам инструментальных методов исследования была выявлена макроаденома гипофиза, а у второго пациента размер аденомы был более 9 мм. Выявлена статистическая тенденция к большим размерам аденомы гипофиза у пациентов с мутацией в гене *USP8* (p=0,038, тест Манна-Уитни, пороговый p=0,02). Анализа частоты рецидива в группах проведено не было, в связи с малым количеством данных и коротким временем наблюдения.

4.4.2 АКТГ-независимый гиперкортицизм

Нарушения в регуляции цАМФ/ПКА сигнального пути являются наиболее частыми причинами развития доброкачественных объемных образований надпочечников. Активирующие мутации в гене *GNAS* были первыми описаны у пациентов с кортизол-продуцирующими образованиями надпочечников и синдромом МакКьюна-Олбрайта -Брайцева более 30 лет назад [155]. Одним из редких компонентов является неонатальный синдром Кушинга за счет двусторонней диффузной\узелковой гиперплазии надпочечников, чаще всего характеризующейся многочисленными узелками, развивающихся из фетальной коры надпочечников [156,157]. Еще через 10 лет у пациентов с пигментной нодулярной гиперплазией надпочечников были выявлены мутации в гене регуляторной субъединицы 1альфа (*PRKAR1A*) [158]. При дальнейших исследованиях было выявлено, что нарушения в других звеньях этого сигнального пути, являются причиной развития различных кортизол-продуцирующих образований надпочечников (аденомы, узелковые гиперплазии) [100,106,108]. В исследуемой нами группе пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом у всех пациентов с пигментной нодулярной гиперплазией надпочечников и одного пациента с аденомой надпочечника были выявлены мутации в гене *PRKAR1A*. Клинически у пациентов отмечались другие компоненты Карни-комплекса (табл 20). У 4 пациентов из 6 с микронодулярной гиперплазией надпочечников клинически был установлен диагноз синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. 2 пациентам из 4 проводился поиск соматических мутаций в *GNAS*, диагноз молекулярно-генетически подтвержден у 1 пациента. Результаты, полученные на данной выборке пациентов,

согласуются с полученными раннее данными Маказан Н.В. и соавторов и международными данными о низкой частоте выявляемости мутаций гена *GNAS* при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева и необходимости регулярного скрининга компонентов данного синдрома при выявлении микронодулярной гиперплазии надпочечников в раннем детском возрасте [123].

У одного пациента микронодулярная гиперплазия надпочечников была единственным клиническим проявлением заболевания, герминативных мутаций выявлено не было. При обследовании пациентов с аденомами надпочечников у одного пациента из 7 была выявлена мутация в гене *PRKAR1A*, поиска соматических мутаций не проводилось.

Адренокортикальный рак также часто выявляется в составе синдрома Ли-Фраумени (мутация в гене *TP53*) и Беквита-Видемана [9]. В нашей группе пациентов мутаций, отвечающих за развитие вышеописанных синдромов не выявлено, у одного ребенка выявлена мутация в гене *MET*. Протоонкоген *MET* (ген, кодирующий рецептор к фактору роста гепатоцитов HGFR) кодирует рецепторную тирозинкиназу, которая индуцирует RAS-RAF и PI3K сигнальные пути, отвечающие за регуляцию клеточной пролиферации и ингибированию апоптоза. Также в клетках опухолей MET участвует в адаптации клеток к окружающей среде [159]. Мутации в гене *MET* встречаются до 20% случаев у пациентов со злокачественными образованиями [160].

Таким образом, по результатам молекулярно-генетического исследования на нашей группе пациентов, кортикотропиномы встречались в составе синдромов МЭН1 и DICER-синдрома, а кортизол-продуцирующие образования надпочечников – при Карни-комплексе и синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. При поиске соматических мутаций в кортикотропиномах были выявлены только мутации в гене *USP8,* частота встречаемости была незначительно ниже по сравнению с данными других исследований (20%).

Статистически значимых различий клинико-лабораторных характеристик в зависимости от генетических вариантов не выявлено.

Ограничения исследования

Исследование является ретроспективным, поэтому нельзя исключить историческое смещение в оценке лабораторных показателей. С ретроспективным дизайном связано и значительное количество пропусков в данных.

У части пациентов, первоначально запланированных для включения в исследование, не удалось получить данные, и соответственно невозможно было оценить течение заболевания и результаты лечения, что привело к ограничению объема выборки. При этом для оценки частоты развития рецидивов сохраняется необходимость весьма длительного сбора данных для получения большого числа позитивных случаев.

Направления дальнейших исследований

1) с целью поиска и выявления необходимых лабораторно-инструментальных, масс-спектрометрических и генетических маркеров, рекомендуется продолжить сбор наблюдений с целью получения достаточного количества пациентов и материалов для исследования для проведения сравнительного анализа.

2) необходим дальнейший сбор данных о пациентах с целью увеличения объема выборки катамнестического наблюдения, что позволит в дальнейшем построить более эффективные прогностические модели для разработки персонализированного подхода ведения пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании многолетних исследований с анализом большого количества пациентов с эндогенным гиперкортицизмом, нами выявлены следующие особенности течения данного орфанного заболевания в детском возрасте. Самыми частыми клиническими проявлениями гиперкортицизма у детей являются прибавка массы тела и замедление темпов роста/задержка роста, а самым частым осложнением хронического гиперкортицизма - артериальная гипертензия, в группе пациентов с АКТГ-независимым гиперкортицизмом развитие артериальной гипертензии отмечено в 70% случаев. Другие клинические проявления в виде нарушений углеводного обмена, остеопороза, гипокалиемии встречаются гораздо реже.

Выявлены различия возрастной структуры заболеваемости эндогенным гиперкортицизмом в детском возрасте. У детей до 6 лет причиной эндогенного гиперкортицизма чаще являются кортизол-продуцирующие образования надпочечников. Варианты двусторонней узелковой гиперплазии чаще являются компонентами синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева и Карни-комплекса. У детей старше 6 лет причиной гиперкортицизма чаще являются кортикотропиномы, которые в большинстве случаев являются спорадическими (более 85% случаев). В нашей выборке пациентов кортикотропиномы встречались только в составе синдромов МЭН1 и DICER-синдрома. Частота встречаемости соматических мутаций на нашей выборке составила 21%, выявлены были только соматические мутации в гене *USP8*.

У пациентов с кортикотропиномами в нашей группе в 85% размеры аденом не превышали 10 мм, из них в 40% случаев не удавалось визуализировать аденому, что также является отличительной особенностью детской популяции.

При отсутствии визуализации аденомы «золотым стандартом» дифференциальной диагностики является селективный забор крови из нижних каменистых синусов со стимуляцией десмопрессином. При анализе результатов исследования у 90% пациентов латерализация опухоли не совпала с локализацией опухолевой ткани по описанию хирургического вмешательства (отмечалось мультифокальное расположение опухоли). Различий в клинико-лабораторных характеристиках гиперкортицизма в зависимости от размера аденомы не выявлено. Мы также не получили статистически значимых различий в частоте достижения ремиссии заболевания и вероятности рецидива заболевания в зависимости от размера кортикотропином.

Примечательно, что из трех пациентов с выявленными мутациями в гене *USP8* у одного была выявлена макроаденома гипофиза, а у второго пациента размер аденомы приближался к 10 мм, тогда как в группе пациентов без мутации ни у одного пациента макроаденомы обнаружено не было. У всех пациентов с мутацией в гене *MEN1* также размеры аденом не превышали 10 мм.

Статистически значимых различий в степени гормональной гиперпродукции и размерах аденом в зависимости от генетических вариантов выявлено не было, что возможно связано с малым количеством пациентов в группах. Анализ частоты развития рецидивов оценить не удалось в связи с малым сроком наблюдения за пациентами, которым проведено молекулярно-генетическое исследование.

Хирургический метод на настоящий момент является «золотым стандартом» лечения болезни Иценко-Кушинга вне зависимости от наличия или отсутствия визуализации аденомы по данным МРТ. До 2006 г при отсутствии визуализации аденомы методом выбора являлась протонотерапия. При анализе течения БИК выявлена статистически значимая разница в сроках развития рецидива в зависимости от проведенного лечения, у пациентов после хирургического лечения отмечен рецидив заболевания в более ранние сроки по сравнению с пациентами, получившими лучевое лечение, что может быть связано с более длительным периодом достижения ремиссии после лучевой терапии.

Также выявлена связь между сроком развития рецидива гиперкортицизма и развитием надпочечниковой недостаточности после проведенного лечения. Среди пациентов с гипокортицизмом, развившимся после хирургического лечения, рецидив заболевания возникал в более ранние сроки по сравнению с пациентами, у которых уровень кортизола после операции снижался до нормальных цифр. Найденная корреляция не позволяет расценивать развитие гипокортицизма в послеоперационном периоде как предиктор риска рецидива заболевания.

При анализе эндокринных осложнений после проведенного лечения получено статистически значимое более частое развитие СТГ-дефицита и вторичного гипогонадизма у пациентов после проведенного лучевого лечения по сравнению с хирургическим лечением. Несахарный диабет развивался только у пациентов после ХЛ.

По результатам исследования мультистероидного профиля у детей с разными заболеваниями надпочечников в нашем исследовании выявлены особенности, характерные для кортикостером в отличии как от АКТГ-зависимого гиперкортицизма, так и от инциденталом надпочечника. Эти особенности заключаются в повышении уровня 11-дезоксикортизола и снижении уровня 17-гидроксипрегненолона и ДГЭА. Все различия получены на уровне статистических тенденций, что, возможно, связано с маленьким количеством пациентов в выборке.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее частыми клиническими проявлениями гиперкортицизма у детей являются увеличение массы тела с перераспределением подкожно-жировой клетчатки (93%) в совокупности с задержкой роста (65%) и артериальной гипертензией (42%).
2. Ремиссия после хирургического лечения кортикотропном достигнута у 71% пациентов и у 85% после лучевой терапии, ассоциации с наличием и размерами аденомы гипофиза не выявлено. Развитие СТГ-дефицита и вторичного гипогонадизма статистически значимо чаще выявлялись у пациентов после проведенного лучевого лечения, а развитие несахарного диабета отмечено только у пациентов после перенесенного хирургического лечения.
3. Зависимости сроков наступления рецидива от визуализации и размеров аденомы не выявлено (p= 0,055). Не найдена корреляция между развитием гипокортицизма в послеоперационном периоде и более длительным безрецидивным течением заболевания в детском возрасте, рецидив заболевания возникал в более ранние сроки у пациентов с развившимся гипокортицизмом (p=0,04).
4. Мультистероидный профиль крови методом тандемной масс-спектрометрии не позволил обнаружить новых дифференциально-диагностических маркеров различных форм эндогенного гиперкортицизма.
5. Кортикотропиномы в составе синдромов множественных неоплазий у детей встречаются в 14% случаев, а кортикостеромы и различные варианты узелковой гиперплазии надпочечников – в 67% случаев. Полноэкзомное секвенирование позволило выявить соматические мутации в гене USP8 в удаленных кортикотропиномах в 21% случаев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем пациентам с замедлением темпов роста/отставанием в росте, особенно при сопутствующей прогрессирующей прибавке массы тела и перераспределении подкожно-жировой клетчатки, рекомендовано в план обследования включать исключение эндогенного гиперкортицизма.
2. Не рекомендуется использовать данные о латерализации опухоли по результатам селективного забора крови из нижних каменистых синусов в качестве предиктора расположения опухоли.
3. При выявлении эндогенного гиперкортицизма у детей рекомендовано дополнительное обследование для исключения компонентов синдромов множественных неоплазий и проведения молекулярно-генетического обследования.
4. Несмотря на достижении ремиссии после проведенного радикального лечения (хирургического или лучевого) по поводу болезни Иценко-Кушинга, рекомендуется ежегодное динамическое обследование пациентов с целью диагностики и коррекции компонентов посттерапевтического гипопитуитаризма и в связи с сохраняющейся вероятностью разцития рецидива заболевания.
5. У пациентов с узелковой гиперплазией надпочечников с манифестацией в первые годы жизни рекомендуется ежегодное динамическое обследование пациентов для регулярного скрининга на наличие других компонентов синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКТГ – адренокортикотропный гормон
БИК – болезнь Иценко-Кушинга
СК – синдром Кушинга
МЭН1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа
МЭН2 – синдром множественных эндокринных неоплазий 2 типа
МЭН4 - синдром множественных эндокринных неоплазий 4 типа
ГГНО – гипоталамо-гипофизарно- надпочечниковая ось
КРГ - кортикотропин-рилизинг гормон
MCR2 - меланокортиновый рецептор 2 типа
Гк – глюкокортикоиды
ГкР - глюкокортикоидный рецептор
АКР - адренокортикальный рак
ПЖК - подкожно-жировая клетчатка
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
СД - сахарный диабет
ППУГН - первичная пигментная узелковая гиперплазия надпочечников
МУГН - микронодулярная узелковая гиперплазия надпочечников
ПДМГН – первичная двусторонняя макронодулярная гиперплазия надпочечников
АН – аденома надпочечника
цАМФ - циклический аденозинмонофосфат
ПКА – протеинкиназа А
МРТ – магнитно-резонасная томография
КТ – компьютерная томография
МСКТ - мультиспиральная компьютерная томография
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФДЭ – фосфодиэстеразы
МОБ - синдром МакКьюн-Олбрайта-Брайцева
НЭО - нейроэндокринные опухоли
ПРЛ – пролактин
СТГ - соматотропный гормон
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
ЦЗК - циклин-зависимые киназы
EGF – эпидермальный ростовой фактор
USP - убиквитин-специфическая протеаза
POMC – проопиомеланокортин
PI3K - p110α фосфатидил-инозитол 3'-киназа
mTOR - мишень рапамицина у млекопитающих
FIPA - синдром семейных изолированных аденом гипофиза
САП - семейный аденоматозный полипоз

ЛГ – лютеинизирующий гормон
ГнРГ - гонадотропин-рилизинг гормон
ВДКН – врожденная дисфункция коры надпочечников
ДГЭА-С – дегидроэпиандростеронсульфат
ДГЭА – дегидроэпиандростерон
ЦНС – центральная нервная система
ЛЛ – лучевой лечение
ХЛ – хирургическое лечение
ЭДТА – этилендиаминтетраацетат
Me [Q1 – Q3] – медиана [1-й и 3-й квартили]
ДИ – доверительный интервал
ИМТ – индекс массы тела
SDS - число стандартных отклонений от среднего
МС - масс-спектрометрия
ГХ-МС – масс-спектрометрия в сочетании с газовой-хроматографией
ВЭЖХ-МС - масс-спектрометрия в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией
СПМ - стероидный профиль мочи
HGFR - рецептор к фактору роста гепатоцитов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sharma ST, Nieman LK, Feelders RA. Cushing's syndrome: epidemiology and developments in disease management. Clin Epidemiol. 2015;7:281-293. Published 2015 Apr 17. doi:10.2147/CLEP.S44336
2. Stratakis CA. An update on Cushing syndrome in pediatrics. Ann Endocrinol (Paris). 2018;79(3):125-131. doi:10.1016/j.ando.2018.03.010
3. Hernández-Ramírez LC, Stratakis CA. Genetics of Cushing's Syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am. 2018;47(2):275-297. doi:10.1016/j.ecl.2018.02.007
4. Faucz FR, Tirosh A, Tatsi C, et al. Somatic USP8 Gene Mutations Are a Common Cause of Pediatric Cushing Disease. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102(8):2836-2843. doi:10.1210/jc.2017-00161
5. Hayashi K, Inoshita N, Kawaguchi K, et al. The USP8 mutational status may predict drug susceptibility in corticotroph adenomas of Cushing's disease. Eur J Endocrinol. 2016;174(2):213-226. doi:10.1530/EJE-15-0689
6. Lodish M, Stratakis CA. A genetic and molecular update on adrenocortical causes of Cushing syndrome. Nat Rev Endocrinol. 2016;12(5):255-262. doi:10.1038/nrendo.2016.24.
7. Lin CL, Wu TJ, Machacek DA, Jiang NS, Kao PC. Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82(1):151-155. doi:10.1210/jcem.82.1.3687
8. Eisenhofer G, Masjkur J, Peitzsch M, et al. Plasma Steroid Metabolome Profiling for Diagnosis and Subtyping Patients with Cushing Syndrome. Clin Chem. 2018;64(3):586-596. doi:10.1373/clinchem.2017.282582
9. Lodish M. Genetics of Adrenocortical Development and Tumors. Endocrinol Metab Clin North Am. 2017;46(2):419-433. doi:10.1016/j.ecl.2017.01.007
10. Magiakou MA, Mastorakos G, Oldfield EH, et al. Cushing's syndrome in children and adolescents. Presentation, diagnosis, and therapy. N Engl J Med. 1994;331(10):629-636. doi:10.1056/NEJM199409083311002
11. Storr HL, Chan LF, Grossman AB, Savage MO. Paediatric Cushing's syndrome: epidemiology, investigation and therapeutic advances. Trends Endocrinol Metab. 2007;18(4):167-174. doi:10.1016/j.tem.2007.03.005
12. More J, Young J, Reznik Y, et al. Ectopic ACTH syndrome in children and adolescents. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(5):1213-1222. doi:10.1210/jc.2010-2276
13. Wagner-Bartak NA, Baiomy A, Habra MA, et al. Cushing Syndrome: Diagnostic Workup and Imaging Features, With Clinical and Pathologic Correlation. AJR Am J Roentgenol. 2017;209(1):19-32. doi:10.2214/AJR.16.172
14. Lodish MB, Keil MF, Stratakis CA. Cushing's Syndrome in Pediatrics: An Update. Endocrinol Metab Clin North Am. 2018;47(2):451-462. doi:10.1016/j.ecl.2018.02.008
15. Gafni RI, Papanicolaou DA, Nieman LK. Nighttime salivary cortisol measurement as a simple, noninvasive, outpatient screening test for Cushing's syndrome in children and adolescents. J Pediatr. 2000;137(1):30-35. doi:10.1067/mpd.2000.106226
16. Batista DL, Riar J, Keil M, Stratakis CA. Diagnostic tests for children who are referred for the investigation of Cushing syndrome. Pediatrics. 2007;120(3):e575-e586. doi:10.1542/peds.2006-2402
17. LIDDLE GW. Tests of pituitary-adrenal suppressibility in the diagnosis of Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1960;20:1539-1560. doi:10.1210/jcem-20-12-1539

18. Aniszewski JP, Young WF Jr, Thompson GB, Grant CS, van Heerden JA. Cushing syndrome due to ectopic adrenocorticotropic hormone secretion. World J Surg. 2001;25(7):934-940. doi:10.1007/s00268-001-0032-5
19. Aron DC, Raff H, Findling JW. Effectiveness versus efficacy: the limited value in clinical practice of high dose dexamethasone suppression testing in the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82(6):1780-1785.
20. Bourdeau I, Lacroix A, Schürch W, Caron P, Antakly T, Stratakis CA. Primary pigmented nodular adrenocortical disease: paradoxical responses of cortisol secretion to dexamethasone occur in vitro and are associated with increased expression of the glucocorticoid receptor. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88(8):3931-3937. doi:10.1210/jc.2002-022001
21. Louiset E, Stratakis CA, Perraudin V, et al. The paradoxical increase in cortisol secretion induced by dexamethasone in primary pigmented nodular adrenocortical disease involves a glucocorticoid receptor-mediated effect of dexamethasone on protein kinase A catalytic subunits. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(7):2406-2413. doi:10.1210/jc.2009-0031
22. Chen S, Chen K, Lu L, et al. The effects of sampling lateralization on bilateral inferior petrosal sinus sampling and desmopressin stimulation test for pediatric Cushing's disease. Endocrine. 2019;63(3):582-591. doi:10.1007/s12020-018-1779-x
23. Tritos NA, Biller BM, Swearingen B. Management of Cushing disease. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(5):279-289. doi:10.1038/nrendo.2011.12
24. Hofmann BM, Hlavac M, Martinez R, Buchfelder M, Müller OA, Fahlbusch R. Long-term results after microsurgery for Cushing disease: experience with 426 primary operations over 35 years. J Neurosurg. 2008;108(1):9-18. doi:10.3171/JNS/2008/108/01/0009
25. Shimon I, Ram Z, Cohen ZR, Hadani M. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: endocrinological follow-up monitoring of 82 patients. Neurosurgery. 2002;51(1):57-62. doi:10.1097/00006123-200207000-00008
26. Fomekong E, Maiter D, Grandin C, Raftopoulos C. Outcome of transsphenoidal surgery for Cushing's disease: a high remission rate in ACTH-secreting macroadenomas. Clin Neurol Neurosurg. 2009;111(5):442-449. doi:10.1016/j.clineuro.2008.12.011
27. Hammer GD, Tyrrell JB, Lamborn KR, et al. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease: initial outcome and long-term results. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(12):6348-6357. doi:10.1210/jc.2003-032180
28. Lonser RR, Wind JJ, Nieman LK, Weil RJ, DeVroom HL, Oldfield EH. Outcome of surgical treatment of 200 children with Cushing's disease. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(3):892-901. doi:10.1210/jc.2012-3604
29. Storr HL, Drake WM, Evanson J, et al. Endonasal endoscopic transsphenoidal pituitary surgery: early experience and outcome in paediatric Cushing's disease. Clin Endocrinol (Oxf). 2014;80(2):270-276. doi:10.1111/cen.12275
30. Barzaghi LR, Losa M, Capitanio JF, Albano L, Weber G, Mortini P. Pediatric Pituitary Adenomas: Early and Long-Term Surgical Outcome in a Series of 85 Consecutive Patients. Neurosurgery. 2019;85(1):65-74. doi:10.1093/neuros/nyy204
31. Oliveira RS, Castro Md, Antonini SR, Martinelli CE Jr, Moreira AC, Machado HR. Surgical management of pediatric Cushing's disease: an analysis of 15 consecutive cases at a specialized neurosurgical center. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2010;54(1):17-23. doi:10.1590/s0004-27302010000100004

32. Patil CG, Prevedello DM, Lad SP, et al. Late recurrences of Cushing's disease after initial successful transsphenoidal surgery. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(2):358-362. doi:10.1210/jc.2007-2013
33. Sonino N, Zielezny M, Fava GA, Fallo F, Boscaro M. Risk factors and long-term outcome in pituitary-dependent Cushing's disease. J Clin Endocrinol Metab. 1996;81(7):2647-2652. doi:10.1210/jcem.81.7.8675592
34. Dimopoulou C, Schopohl J, Rachinger W, et al. Long-term remission and recurrence rates after first and second transsphenoidal surgery for Cushing's disease: care reality in the Munich Metropolitan Region. Eur J Endocrinol. 2013;170(2):283-292. Published 2013 Dec 21. doi:10.1530/EJE-13-0634
35. Estrada J, Boronat M, Mielgo M, et al. The long-term outcome of pituitary irradiation after unsuccessful transsphenoidal surgery in Cushing's disease. N Engl J Med. 1997;336(3):172-177. doi:10.1056/NEJM199701163360303
36. Sheehan JM, Vance ML, Sheehan JP, Ellegala DB, Laws ER Jr. Radiosurgery for Cushing's disease after failed transsphenoidal surgery. J Neurosurg. 2000;93(5):738-742. doi:10.3171/jns.2000.93.5.0738
37. Minniti, G. et al. Long-term follow-up results of postoperative radiation therapy for Cushing’s disease. J. Neurooncol. 84, 79–84 (2007).
38. Shabb JB. Physiological substrates of cAMP-dependent protein kinase. Chem Rev. 2001;101(8):2381-2411. doi:10.1021/cr000236l
39. Tirosh A, Valdés N, Stratakis CA. Genetics of micronodular adrenal hyperplasia and Carney complex. Presse Med. 2018;47(7-8 Pt 2):e127-e137. doi:10.1016/j.lpm.2018.07.005
40. Collins MT, Singer FR, Eugster E. McCune-Albright syndrome and the extraskeletal manifestations of fibrous dysplasia. Orphanet J Rare Dis. 2012;7 Suppl 1(Suppl 1):S4. doi:10.1186/1750-1172-7-S1-S4
41. Sato Y, Maekawa S, Ishii R, et al. Recurrent somatic mutations underlie corticotropin-independent Cushing's syndrome. Science. 2014;344(6186):917-920. doi:10.1126/science.1252328
42. Fragoso MC, Domenice S, Latronico AC, et al. Cushing's syndrome secondary to adrenocorticotropin-independent macronodular adrenocortical hyperplasia due to activating mutations of GNAS1 gene. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88(5):2147-2151. doi:10.1210/jc.2002-021362
43. Albani A, Theodoropoulou M, Reincke M. Genetics of Cushing's disease. Clin Endocrinol (Oxf). 2018;88(1):3-12. doi:10.1111/cen.13457
44. Kirschner LS, Carney JA, Pack SD, et al. Mutations of the gene encoding the protein kinase A type I-alpha regulatory subunit in patients with the Carney complex. Nat Genet. 2000;26(1):89-92. doi:10.1038/79238
45. Carney JA. The Carney complex (myxomas, spotty pigmentation, endocrine overactivity, and schwannomas). Dermatol Clin. 1995;13(1):19-26.
46. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86(9):4041-4046. doi:10.1210/jcem.86.9.7903
47. Anselmo J, Medeiros S, Carneiro V, et al. A large family with Carney complex caused by the S147G PRKAR1A mutation shows a unique spectrum of disease including adrenocortical cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(2):351-359. doi:10.1210/jc.2011-2244

48. Bertherat J, Groussin L, Sandrini F, et al. Molecular and functional analysis of PRKAR1A and its locus (17q22-24) in sporadic adrenocortical tumors: 17q losses, somatic mutations, and protein kinase A expression and activity. Cancer Res. 2003;63(17):5308-5319.
49. Kiefer FW, Winhofer Y, Iacovazzo D, et al. PRKAR1A mutation causing pituitary-dependent Cushing disease in a patient with Carney complex. Eur J Endocrinol. 2017;177(2):K7-K12. doi:10.1530/EJE-17-0227
50. Pack SD, Qin LX, Pak E, et al. Common genetic changes in hereditary and sporadic pituitary adenomas detected by comparative genomic hybridization. Genes Chromosomes Cancer. 2005;43(1):72-82. doi:10.1002/gcc.20162
51. Hernández-Ramírez LC, Tatsi C, Lodish MB, et al. Corticotropinoma as a Component of Carney Complex. J Endocr Soc. 2017;1(7):918-925. Published 2017 May 30. doi:10.1210/js.2017-00231
52. Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. Nat Rev Genet. 2004;5(9):691-701. doi:10.1038/nrg1427
53. Salahshor S, Woodgett JR. The links between axin and carcinogenesis [published correction appears in J Clin Pathol. 2005 Dec;58(12):1344]. J Clin Pathol. 2005;58(3):225-236. doi:10.1136/jcp.2003.009506
54. Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis. Int J Dev Biol. 2004;48(5-6):477-487. doi:10.1387/ijdb.041815jb
55. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. Nature. 2005;434(7035):843-850. doi:10.1038/nature03319
56. Kikuchi A. Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. Cancer Sci. 2003;94(3):225-229. doi:10.1111/j.1349-7006.2003.tb01424.x
57. He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. Science. 1998;281(5382):1509-1512. doi:10.1126/science.281.5382.1509
58. Giles RH, van Es JH, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. Biochim Biophys Acta. 2003;1653(1):1-24. doi:10.1016/s0304-419x(03)00005-2
59. Tissier F, Cavard C, Groussin L, et al. Mutations of beta-catenin in adrenocortical tumors: activation of the Wnt signaling pathway is a frequent event in both benign and malignant adrenocortical tumors. Cancer Res. 2005;65(17):7622-7627. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-0593
60. Tadjine M, Lampron A, Ouadi L, Bourdeau I. Frequent mutations of beta-catenin gene in sporadic secreting adrenocortical adenomas. Clin Endocrinol (Oxf). 2008;68(2):264-270. doi:10.1111/j.1365-2265.2007.03033.x
61. Bonnet S, Gaujoux S, Launay P, et al. Wnt/β-catenin pathway activation in adrenocortical adenomas is frequently due to somatic CTNNB1-activating mutations, which are associated with larger and nonsecreting tumors: a study in cortisol-secreting and -nonsecreting tumors. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(2):E419-E426. doi:10.1210/jc.2010-1885
62. Bourdeau I, Antonini SR, Lacroix A, et al. Gene array analysis of macronodular adrenal hyperplasia confirms clinical heterogeneity and identifies several candidate genes as molecular mediators. Oncogene. 2004;23(8):1575-1585. doi:10.1038/sj.onc.1207277
63. Fang X, Yu SX, Lu Y, Bast RC Jr, Woodgett JR, Mills GB. Phosphorylation and inactivation of glycogen synthase kinase 3 by protein kinase A. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(22):11960-11965. doi:10.1073/pnas.220413597

64. Taurin S, Sandbo N, Qin Y, Browning D, Dulin NO. Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase. J Biol Chem. 2006;281(15):9971-9976. doi:10.1074/jbc.M508778200
65. Hino S, Tanji C, Nakayama KI, Kikuchi A. Phosphorylation of beta-catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes beta-catenin through inhibition of its ubiquitination. Mol Cell Biol. 2005;25(20):9063-9072. doi:10.1128/MCB.25.20.9063-9072.2005
66. Simonds WF, Varghese S, Marx SJ, Nieman LK. Cushing's syndrome in multiple endocrine neoplasia type 1. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;76(3):379-386. doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04220.x
67. de Laat JM, Dekkers OM, Pieterman CR, et al. Long-Term Natural Course of Pituitary Tumors in Patients With MEN1: Results From the DutchMEN1 Study Group (DMSG). J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(9):3288-3296. doi:10.1210/JC.2015-2015
68. Bilezikjian LM, Vale WW. The Local Control of the Pituitary by Activin Signaling and Modulation. Open Neuroendocrinol J. 2011;4:90-101. doi:10.2174/1876528901104010090
69. Trouillas J, Labat-Moleur F, Sturm N, et al. Pituitary tumors and hyperplasia in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome (MEN1): a case-control study in a series of 77 patients versus 2509 non-MEN1 patients. Am J Surg Pathol. 2008;32(4):534-543. doi:10.1097/PAS.0b013e31815ade45
70. Gatta-Cherifi B, Chabre O, Murat A, et al. Adrenal involvement in MEN1. Analysis of 715 cases from the Groupe d'etude des Tumeurs Endocrines database. Eur J Endocrinol. 2012;166(2):269-279. doi:10.1530/EJE-11-0679
71. Buckley N, Bates AS, Broome JC, et al. p53 Protein accumulates in Cushings adenomas and invasive non-functional adenomas. J Clin Endocrinol Metab. 1994;79(5):1513-1516. doi:10.1210/jcem.79.5.7962351
72. Juhlin CC, Goh G, Healy JM, et al. Whole-exome sequencing characterizes the landscape of somatic mutations and copy number alterations in adrenocortical carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(3):E493-E502. doi:10.1210/jc.2014-3282
73. Pinto EM, Chen X, Easton J, et al. Genomic landscape of paediatric adrenocortical tumours. Nat Commun. 2015;6:6302. Published 2015 Mar 6. doi:10.1038/ncomms7302
74. Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. J Clin Oncol. 2009;27(8):1250-1256. doi:10.1200/JCO.2008.16.6959
75. Huizenga NA, de Lange P, Koper JW, et al. Human adrenocorticotropin-secreting pituitary adenomas show frequent loss of heterozygosity at the glucocorticoid receptor gene locus. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83(3):917-921. doi:10.1210/jcem.83.3.4648
76. Kirschke E, Goswami D, Southworth D, et al. Glucocorticoid receptor function regulated by coordinated action of the Hsp90 and Hsp70 chaperone cycles. Cell. 2014;157(7):1685-1697. doi:10.1016/j.cell.2014.04.038
77. Wells AD, Morawski PA. New roles for cyclin-dependent kinases in T cell biology: linking cell division and differentiation. Nat Rev Immunol. 2014;14(4):261-270. doi:10.1038/nri3625
78. Jordan S, Lidhar K, Korbonits M, et al. Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. Eur J Endocrinol. 2000;143(1):R1-R6. doi:10.1530/eje.0.143r001

79. Roussel-Gervais A, Bilodeau S, Vallette S, et al. Cooperation between cyclin E and p27(Kip1) in pituitary tumorigenesis. Mol Endocrinol. 2010;24(9):1835-1845. doi:10.1210/me.2010-0091
80. Bilodeau S, Vallette-Kasic S, Gauthier Y, et al. Role of Brg1 and HDAC2 in GR trans-repression of the pituitary POMC gene and misexpression in Cushing disease. Genes Dev. 2006;20(20):2871-2886. doi:10.1101/gad.1444606.
81. Roussel-Gervais A, Couture C, Langlais D, et al. The Cables1 Gene in Glucocorticoid Regulation of Pituitary Corticotrope Growth and Cushing Disease. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(2):513-522. doi:10.1210/jc.2015-3324
82. Hernández-Ramírez LC, Gam R, Valdés N, et al. Loss-of-function mutations in the CABLES1 gene are a novel cause of Cushing's disease. Endocr Relat Cancer. 2017;24(8):379-392. doi:10.1530/ERC-17-0131
83. Reincke M, Sbiera S, Hayakawa A, et al. Mutations in the deubiquitinase gene USP8 cause Cushing's disease. Nat Genet. 2015;47(1):31-38. doi:10.1038/ng.3166
84. Renner U, Ciato D, Stalla GK. Recent advances in understanding corticotroph pituitary tumor initiation and progression. F1000Res. 2018;7:F1000 Faculty Rev-1354. Published 2018 Aug 29. doi:10.12688/f1000research.14789.1
85. Faucz FR, Tirosh A, Tatsi C, et al. Somatic USP8 Gene Mutations Are a Common Cause of Pediatric Cushing Disease. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102(8):2836-2843. doi:10.1210/jc.2017-00161
86. Cohen M, Persky R, Stegemann R, et al. Germline USP8 Mutation Associated With Pediatric Cushing Disease and Other Clinical Features: A New Syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(10):4676-4682. doi:10.1210/jc.2019-00697
87. Murat CB, Braga PB, Fortes MA, et al. Mutation and genomic amplification of the PIK3CA proto-oncogene in pituitary adenomas. Braz J Med Biol Res. 2012;45(9):851-855. doi:10.1590/s0100-879x2012007500115
88. Chasseloup F, Pankratz N, Lane J, et al. Germline CDKN1B Loss-of-Function Variants Cause Pediatric Cushing's Disease With or Without an MEN4 Phenotype. J Clin Endocrinol Metab. 2020;105(6):1983-2005. doi:10.1210/clinem/dgaa160
89. Steiner AL, Goodman AD, Powers SR. Study of a kindred with pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: multiple endocrine neoplasia, type 2. Medicine (Baltimore). 1968;47(5):371-409. doi:10.1097/00005792-196809000-00001
90. Kasturi K, Fernandes L, Quezado M, et al. Cushing Disease in a patient with Multiple Endocrine Neoplasia type 2B. J Clin Transl Endocrinol Case Rep. 2017;4:1-4. doi:10.1016/j.jecr.2017.02.001
91. Naziat A, Karavitaki N, Thakker R, et al. Confusing genes: a patient with MEN2A and Cushing's disease. Clin Endocrinol (Oxf). 2013;78(6):966-968. doi:10.1111/cen.12072
92. Song MS, Rossi JJ. Molecular mechanisms of Dicer: endonuclease and enzymatic activity. Biochem J. 2017;474(10):1603-1618. Published 2017 May 4. doi:10.1042/BCJ20160759
93. Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, et al. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(9):3316-3323. doi:10.1210/jc.2005-2671
94. Beckers A, Aaltonen LA, Daly AF, Karhu A. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and the pituitary adenoma predisposition due to mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene. Endocr Rev. 2013;34(2):239-277. doi:10.1210/er.2012-1013

95. Lam HC, Nijmeh J, Henske EP. New developments in the genetics and pathogenesis of tumours in tuberous sclerosis complex. J Pathol. 2017;241(2):219-225. doi:10.1002/path.4827
96. Tigas S, Carroll PV, Jones R, et al. Simultaneous Cushing's disease and tuberous sclerosis; a potential role for TSC in pituitary ontogeny. Clin Endocrinol (Oxf). 2005;63(6):694-695. doi:10.1111/j.1365-2265.2005.02374.x
97. Nandagopal R, Vortmeyer A, Oldfield EH, Keil MF, Stratakis CA. Cushing's syndrome due to a pituitary corticotropinoma in a child with tuberous sclerosis: an association or a coincidence?. Clin Endocrinol (Oxf). 2007;67(4):639-641. doi:10.1111/j.1365-2265.2007.02941.x
98. Goh G, Scholl UI, Healy JM, et al. Recurrent activating mutation in PRKACA in cortisol-producing adrenal tumors [published correction appears in Nat Genet. 2014 Jul;46(7):759. Kuntsman, John W [corrected to Kunstman, John W]]. Nat Genet. 2014;46(6):613-617. doi:10.1038/ng.2956
99. Espiard S, Ragazzon B, Bertherat J. Protein kinase A alterations in adrenocortical tumors. Horm Metab Res. 2014;46(12):869-875. doi:10.1055/s-0034-1385908
100. Beuschlein F, Fassnacht M, Assié G, et al. Constitutive activation of PKA catalytic subunit in adrenal Cushing's syndrome. N Engl J Med. 2014;370(11):1019-1028. doi:10.1056/NEJMoa1310359
101. Cao Y, He M, Gao Z, et al. Activating hotspot L205R mutation in PRKACA and adrenal Cushing's syndrome. Science. 2014;344(6186):913-917. doi:10.1126/science.1249480
102. Sato Y, Maekawa S, Ishii R, et al. Recurrent somatic mutations underlie corticotropin-independent Cushing's syndrome. Science. 2014;344(6186):917-920. doi:10.1126/science.1252328
103. Di Dalmazi G, Kisker C, Calebiro D, et al. Novel somatic mutations in the catalytic subunit of the protein kinase A as a cause of adrenal Cushing's syndrome: a European multicentric study. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(10):E2093-E2100. doi:10.1210/jc.2014-2152
104. Bertherat J, Groussin L, Sandrini F, et al. Molecular and functional analysis of PRKAR1A and its locus (17q22-24) in sporadic adrenocortical tumors: 17q losses, somatic mutations, and protein kinase A expression and activity. Cancer Res. 2003;63(17):5308-5319.
105. Lodish MB, Yuan B, Levy I, et al. Germline PRKACA amplification causes variable phenotypes that may depend on the extent of the genomic defect: molecular mechanisms and clinical presentations. Eur J Endocrinol. 2015;172(6):803-811. doi:10.1530/EJE-14-1154
106. Horvath A, Boikos S, Giatzakis C, et al. A genome-wide scan identifies mutations in the gene encoding phosphodiesterase 11A4 (PDE11A) in individuals with adrenocortical hyperplasia. Nat Genet. 2006;38(7):794-800. doi:10.1038/ng1809
107. Tsai LC, Shimizu-Albergine M, Beavo JA. The high-affinity cAMP-specific phosphodiesterase 8B controls steroidogenesis in the mouse adrenal gland. Mol Pharmacol. 2011;79(4):639-648. doi:10.1124/mol.110.069104
108. Horvath A, Mericq V, Stratakis CA. Mutation in PDE8B, a cyclic AMP-specific phosphodiesterase in adrenal hyperplasia. N Engl J Med. 2008;358(7):750-752. doi:10.1056/NEJMc0706182
109. Rothenbuhler A, Horvath A, Libé R, et al. 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 [published correction appears in Clin Endocrinol (Oxf). 2012 Dec;77(6):943]. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;77(2):195-199. doi:10.1111/j.1365-2265.2012.04366.x
110. Smith TG, Clark SK, Katz DE, Reznek RH, Phillips RK. Adrenal masses are associated with familial adenomatous polyposis. Dis Colon Rectum. 2000;43(12):1739-1742. doi:10.1007/BF02236860
111. Marchesa P, Fazio VW, Church JM, McGannon E. Adrenal masses in patients with familial adenomatous polyposis. Dis Colon Rectum. 1997;40(9):1023-1028. doi:10.1007/BF02050923
112. Hsiao HP, Kirschner LS, Bourdeau I, et al. 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. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(8):2930-2937. doi:10.1210/jc.2009-0516
113. Gaujoux S, Pinson S, Gimenez-Roqueplo AP, et al. Inactivation of the APC gene is constant in adrenocortical tumors from patients with familial adenomatous polyposis but not frequent in sporadic adrenocortical cancers. Clin Cancer Res. 2010;16(21):5133-5141. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1497
114. Assie G, Libe R, Espiard S, et al. ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome. N Engl J Med. 2013;369(22):2105-2114. https://doi.org/https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304603
115. Espiard S, Drougat L, Libe R, et al. ARMC5 Mutations in a Large Cohort of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: Clinical and Functional Consequences. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(6):E926-935. https://doi.org/https://doi.org/10.1210/jc.2014-4204
116. Louiset E, Duparc C, Young J, et al. Intraadrenal corticotropin in bilateral macronodular adrenal hyperplasia. N Engl J Med. 2013;369(22):2115-2125. https://doi.org/https://doi.org/10.1056/NEJMoa1215245
117. И.И. Дедов, В.А. Петеркова Справочник детского эндокринолога. 2-е издание, исправленное и дополненное
118. Стребкова Н.А. Аденомы гипофиза у детей: клинико-лабораторная характеристика и сравнительная оценка эффективности различных методов лечения. //Дис. канд. мед. наук. М., 1999
119. Hardy J, Vezina JL. Transsphenoidal neurosurgery of intracranial neoplasm. Adv Neurol. 1976;15:261-273.
120. Wilson CB, Tindal GT, Collins WF. Neurosurgical management of large and invasive pituitary tumors. Clinical management of pituitary disorders // 1979; 335-342.
121. Российские клинические рекомендации. Эндокринология // Под ред. акад. РАН И.И. Дедова, акад. РАН Г.А. Мельниченко. — М.: Издательская группа «Гэотар - Медиа», 2016
122. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. J Mol Diagn. 2017;19(1):4-23. doi:10.1016/j.jmoldx.2016.10.002
123. Маказан Н.В., Орлова Е.М., Колодкина А.А., Карева М.А., Калинченко Н.Ю., Васильев Е.В., Тюльпаков А.Н., Петеркова В.А. Роль молекулярно-генетических методов исследования в диагностике синдрома МакКьюна—

Олбрайта—Брайцева. Проблемы Эндокринологии. 2017;63(6):360-368. https://doi.org/10.14341/probl2017636360-368 Makazan N.V., Orlova E.M., Kolodkina A.A., Kareva M.A., Kalinchenko N.Yu., Vasilyev E.V., Tiulpakov A.N., Peterkova V.A. The role of molecular genetic methods in the diagnosis of McCune—Albright syndrome. Problems of Endocrinology. 2017;63(6):360-368. https://doi.org/10.14341/probl2017636360-368

124. Liu APY, Kelsey MM, Sabbaghian N, Tiulpakov AN, et al. Clinical Outcomes and Complications of Pituitary Blastoma. J Clin Endocrinol Metab. 2021;106(2):351-363. doi:10.1210/clinem/dgaa857

125. Мамедова Е.О., Пржиялковская Е.Г., Пигарова Е.А., Мокрышева Н.Г., Дзеранова Л.К., Тюльпаков А.Н. Аденомы гипофиза в рамках наследственных синдромов. Проблемы эндокринологии. 2014;60(4):51-59. Mamedova EO, Przhiialkovskaia EG, Pigarova EA, Mokrysheva NG, Dzeranova LK, Tiul'pakov AN. Pituitary adenomas in the framework of hereditary syndromes. Problemy Endokrinologii. 2014;60(4):51-59. (In Russ.). https://doi.org/10.14341/probl201460451-59

126. Орлова Е.М.,Карева М.А.,Захарова Е.Ю, Полякова Г.А., Поддубный И.В., Толстов К.Н., Ширяева Т.Ю., Меликян М.А., Калинченко Н.Ю., Удалова Н.В., Петеркова В.А. Три случая Карни-комплекса у детей: клинические и молекулярно-генетические особенности Карни-комплекса у детей (первое описание в России). Проблемы Эндокринологии. 2012;58(5):50-56. https://doi.org/10.14341/probl201258550-56 Orlova E.M., Kareva M.A., Zakharova E.I., Poliakova G.A., Poddubnyĭ I.V., Tolstov K.N., Shiriaeva L.I., Melikian M.A., Kalinchenko N.I., Udalova N.V., Peterkova V.A. Three cases of Carney complex in the children: clinical and molecular-genetic features of Carney complex in the children (the first description in Russia). Problems of Endocrinology. 2012;58(5):50-56. https://doi.org/10.14341/probl201258550-56

127. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиа Сфера, 2003.

128. Bochicchio D, Losa M, Buchfelder M. Factors influencing the immediate and late outcome of Cushing's disease treated by transsphenoidal surgery: a retrospective study by the European Cushing's Disease Survey Group. J Clin Endocrinol Metab. 1995;80(11):3114-3120. doi:10.1210/jcem.80.11.7593411

129. Rees DA, Hanna FW, Davies JS, Mills RG, Vafidis J, Scanlon MF. Long-term follow-up results of transsphenoidal surgery for Cushing's disease in a single centre using strict criteria for remission. Clin Endocrinol (Oxf). 2002;56(4):541-551. doi:10.1046/j.1365-2265.2002.01511.x

130. Blevins LS Jr, Christy JH, Khajavi M, Tindall GT. Outcomes of therapy for Cushing's disease due to adrenocorticotropin-secreting pituitary macroadenomas. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83(1):63-67. doi:10.1210/jcem.83.1.4525

131. Cannavò S, Almoto B, Dall'Asta C, et al. Long-term results of treatment in patients with ACTH-secreting pituitary macroadenomas. Eur J Endocrinol. 2003;149(3):195-200. doi:10.1530/eje.0.1490195

132. De Tommasi C, Vance ML, Okonkwo DO, Diallo A, Laws ER Jr. Surgical management of adrenocorticotropic hormone-secreting macroadenomas: outcome and challenges in patients with Cushing's disease or Nelson's syndrome. J Neurosurg. 2005;103(5):825-830. doi:10.3171/jns.2005.103.5.0825

133. Mampalam TJ, Tyrrell JB, Wilson CB. Transsphenoidal microsurgery for Cushing disease. A report of 216 cases. Ann Intern Med. 1988;109(6):487-493. doi:10.7326/0003-4819-109-6-487
134. Марова Е.И., Колесникова Г.С., Арапова С.Д., и др. Факторы прогноза результатов удаления кортикотропином при болезни Иценко–Кушинга. // Эндокринная хирургия. – 2016. – Т. 10. – №4. – С. 20-30. [Marova EI, Kolesnikova GS, Arapova SD, et al. Factors predicting the outcomes of removal of corticotropinoms in Cushing's disease. Endocrine surgery. 2016;10(4):20-31. (In Russ.)] doi: 10.14341/serg2016420-30.
135. Надеждина Е.Ю., Реброва О.Ю., Иващенко О.В., Азизян В.Н., Арапова С.Д., Григорьев А.Ю. Факторы, влияющие на вероятность возникновения рецидива болезни Иценко–Кушинга в течение трех лет после успешного нейрохирургического лечения. Эндокринная хирургия. 2018;12(2):70-80. https://doi.org/10.14341/serg9761 [Nadezhdina E.Y., Rebrova O.Y., Ivashenko O.V., Azizyan V.N., Arapova S.D., Grigoriev A.Y. Factors affecting the probability of recurrence of the Cushing’s disease within 3 years after effective neurosurgical treatment. Endocrine Surgery. 2018;12(2):70-80. (In Russ.)] https://doi.org/10.14341/serg9761
136. Chen JC, Amar AP, Choi S et al. Transsphenoidal microsurgical treatment of Cushing disease: postoperative assessment of surgical efficacy by application of an overnight low-dose dexamethasone suppression test // Neurosurg. 2003; 98: 967–973. doi: 10.3171/jns.2003.98/5/0967
137. Hameed N, Yedinak CG, Brzana J, et al. Remission rate after transsphenoidal surgery in patients with pathologically confirmed Cushing’s disease, the role of cortisol, ACTH assessment and immediate reoperation: a large single center experience // Pituitary. 2013; 16: 452–458, 2013 doi: 10.1007/s11102-012-0455-z
138. Ammini AC, Bhattacharya S, Sahoo JP, Philip J, Tandon N, Goswami R, Jyotsna VJ, Khadgawat R et al. Cushing’s disease: results of treatment and factors affecting outcome // Hormones (Athens). 2011; 10(3): 222–229
139. Хандаева П.М., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Воронцов А.В., Григорьев А.Ю., Воронкова И.А., Лапшина А.М., Ситкин И.И., Мельниченко Г.А. Оценка исходов нейрохирургического лечения пациентов с болезнью Иценко-Кушинга в зависимости от наличия визуализации аденомы при МРТ. Пятилетнее наблюдение // Проблемы Эндокринологии. – 2017. – Т. 63. – №5. – С.276–281. doi: 10.14341/probl2017635276-281
140. Pivonello R, De Leo M, Cozzolino A, Colao A. The Treatment of Cushing's Disease. Endocr Rev. 2015;36(4):385-486. doi:10.1210/er.2013-1048
141. Wheeler MJ. Immunoassay techniques. Methods Mol Biol. 2013;1065:7-25. doi:10.1007/978-1-62703-616-0_2
142. Hawley JM, Keevil BG. Endogenous glucocorticoid analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in routine clinical laboratories. J Steroid Biochem Mol Biol. 2016;162:27-40. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.05.014
143. Байдакова Г.В., Иванова Т.А., Захарова Е.Ю., Кокорина О.С. Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике наследственных болезней обмена веществ. Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2018;5(3):96-105. https://doi.org/10.17650/2311-1267-2018-5-3-96-105, Baydakova G.V., Ivanova T.A., Zakharova E.Yu., Kokorina O.S. The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of inherited metabolic diseases. Russian Journal of

Pediatric Hematology and Oncology. 2018;5(3):96-105. (In Russ.) https://doi.org/10.17650/2311-1267-2018-5-3-96-105
144. Eneroth P, Hellstroem K, Ryhage R. Identification And Quantification Of Neutral Fecal Steroids By Gas-Liquid Chromatography And Mass Spectrometry: Studies Of Human Excretion During Two Dietary Regimens. J Lipid Res. 1964;5:245-262.
145. Schoenheimer R, Rittenberg D. Deuterium As An Indicator In The Study Of Intermediary Metabolism. Science. 1935;82(2120):156-157. doi:10.1126/science.82.2120.156
146. Taylor AE, Keevil B, Huhtaniemi IT. Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. Eur J Endocrinol. 2015;173(2):D1-D12. doi:10.1530/EJE-15-0338
147. Ghulam A, Kouach M, Racadot A, Boersma A, Vantyghem MC, Briand G. Quantitative analysis of human serum corticosterone by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1999;727(1-2):227-233. doi:10.1016/s0378-4347(99)00048-1
148. Shackleton C. Clinical steroid mass spectrometry: a 45-year history culminating in HPLC-MS/MS becoming an essential tool for patient diagnosis. J Steroid Biochem Mol Biol. 2010;121(3-5):481-490. doi:10.1016/j.jsbmb.2010.02.017
149. Di Dalmazi G, Fanelli F, Zavatta G, et al. The Steroid Profile of Adrenal Incidentalomas: Subtyping Subjects With High Cardiovascular Risk. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(11):5519-5528. doi:10.1210/jc.2019-00365
150. Taylor DR, Ghataore L, Couchman L, et al. A 13-Steroid Serum Panel Based on LC-MS/MS: Use in Detection of Adrenocortical Carcinoma. Clin Chem. 2017;63(12):1836-1846. doi:10.1373/clinchem.2017.277624
151. Schweitzer S, Kunz M, Kurlbaum M, et al. Plasma steroid metabolome profiling for the diagnosis of adrenocortical carcinoma. Eur J Endocrinol. 2019;180(2):117-125. doi:10.1530/EJE-18-0782
152. Doerr HG, Sippell WG, Drop SL, Bidlingmaier F, Knorr D. Evidence of 11 beta-hydroxylase deficiency in childhood adrenocortical tumors. The plasma corticosterone/11-deoxycorticosterone ratio as a possible marker for malignancy. Cancer. 1987;60(7):1625-1629. doi:10.1002/1097-0142(19871001)60:7<1625::aid-cncr2820600734>3.0.co;2-m
153. Hanukoglu I. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. J Steroid Biochem Mol Biol. 1992;43(8):779-804. doi:10.1016/0960-0760(92)90307-5
154. Miller WL, Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders [published correction appears in Endocr Rev. 2011 Aug;32(4):579]. Endocr Rev. 2011;32(1):81-151. doi:10.1210/er.2010-0013
155. Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, Merino MJ, Friedman E, Spiegel AM. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome. N Engl J Med. 1991;325(24):1688-1695. doi:10.1056/NEJM199112123252403
156. Маказан Н.В., Орлова Е.М., Карева М.А., Поддубный И.В., Толстов К.Н., Полякова Г.А., Богданова П.С., Петеркова В.А., Дедов И.И. Синдром Кушинга у новорожденного мальчика с синдромом МакКьюна—Олбрайта. Проблемы Эндокринологии. 2016;62(3):9-15. https://doi.org/10.14341/probl20166239-15
157. Карева М.А., Маказан Н.В., Орлова Е.М., Поддубный И.В., Петеркова В.А. Синдром Кушинга у ребенка первого года жизни. Проблемы Эндокринологии. 2017;63(2):92-97. https://doi.org/10.14341/probl201763292-97

158. Groussin L, Kirschner LS, Vincent-Dejean C, et al. Molecular analysis of the cyclic AMP-dependent protein kinase A (PKA) regulatory subunit 1A (PRKAR1A) gene in patients with Carney complex and primary pigmented nodular adrenocortical disease (PPNAD) reveals novel mutations and clues for pathophysiology: augmented PKA signaling is associated with adrenal tumorigenesis in PPNAD. Am J Hum Genet. 2002;71(6):1433-1442. doi:10.1086/344579
159. Comoglio PM, Trusolino L, Boccaccio C. Known and novel roles of the MET oncogene in cancer: a coherent approach to targeted therapy. Nat Rev Cancer. 2018;18(6):341-358. doi:10.1038/s41568-018-0002-y
160. Nazha B, Zhuang TZ, Dada HI, et al. Blood-Based Next-Generation Sequencing in Adrenocortical Carcinoma. Oncologist. 2022;27(6):462-468. doi:10.1093/oncolo/oyac06