

Хроматографические профили кортикостероидов при различных образованиях коры надпочечников

Л.И. Великанова, З.Р. Шафигуллина, Е.А. Бессонова, Е.М. Королева, Р.К. Галахова

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

© Коллектив авторов, 2009

Резюме. Обследованы 160 пациентов с инциденталомиями и 29 — с гиперплазией коры надпочечников (ГКН). Использован метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с количественным определением в крови кортизола, кортизона, кортикостерона, 11-дезоксикортикостерона и 11-дезоксикортизола, экскреции свободного кортизола и свободного кортизона с мочой. Субклинический синдром Иценко — Кушинга установлен у 22,5% больных с инциденталомией, дефект 11 β -гидроксилазы — у 5,0% больных с инциденталомией и у 20,7% больных с ГКН. Полученные данные позволяют диагностировать нарушения в надпочечниках на ранних этапах заболевания.

Ключевые слова: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, стероидогенез, субклинический синдром Иценко — Кушинга, дефекты 11 β -гидроксилазы, инциденталомии, врожденная гиперплазия коры надпочечников.

Chromatographic corticosteroid profiles in different masses of adrenal cortex

L.I. Velikanova, Z.R. Shafigullina, E.A. Bessonova, E.M. Koroleva, R.K. Galakhova

Examination of 160 subjects with adrenal cortex incidence and 29 subjects with adrenal cortex hyperplasia was carried out. The method of reverse-phase high-performance liquid chromatography with quantitative determination of blood cortisol (F), cortisone (E), corticosteron (B), 11-dezoxycorticosteron (DOC) and 11-dezoxycortizol (S), excretion of free cortisol (UFF) and free cortisone (UFE) with urine was used. Signs of subclinical Cushing's syndrome and malignancy of formation were assessed. 5% of patients with adrenal cortex incidence and 20,7% patients with adrenal cortex hyperplasia demonstrated disorders of steroidogenesis which were typical for 11 β -hydroxylase defect. The data obtained allow to diagnose adrenal gland disorders at early stages of disease.

Key words: adrenal cortex incidence, high-performance liquid chromatography, steroidogenesis, subclinical Cushing's syndrome, 11 β -hydroxylase defect, hyperplasia.

Введение. В последние годы отмечают значение «обзорных» или «скрининговых» хроматограмм с оценкой всего профиля определяемых соединений для быстрой оценки общего состояния здоровья человека. Особую сложность представляет диагностика заболеваний коры надпочечников с субклиническим течением [2, 4, 7]. Случайно обнаруженные опухоли (инциденталомии) нередко выявляются у больных с врожденной гиперплазией коры надпочечников (ВГКН) [1, 5, 6]. Определенные трудности представляет диагностика дефекта 11 β -гидроксилазы (11 β -ОНД) [9]. Исследование качественного и количественного состава кортикостероидов в крови и моче методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяет получить специфические хроматограммы стероидных профилей и установить нарушения надпочечникового стероидогенеза при различных образованиях коры надпочечников на ранних стадиях [3, 8].

Материалы и методы. Обследовано 160 человек с инциденталомиями коры надпочечников (ИКН) в возрасте 44,7 $\pm$ 5,1 лет и 29 человек с гиперплазией коры надпочечников (ГКН) в возрасте 38,5 $\pm$ 3,4 года. Контрольную группу составили 33 здоровых человека в возрасте от 22

до 40 лет (средний возраст 28,2 $\pm$ 6,5 лет). Все больные на момент обращения имели установленное при ультразвуковом исследовании и/или компьютерной томографии органов брюшной полости, предпринятых по поводу других заболеваний, опухолевое образование в проекции надпочечника или гиперплазию при отсутствии клинических признаков гиперсекреции гормонов коры надпочечников.

Злокачественный характер новообразования надпочечника был верифицирован при гистологическом исследовании удаленной опухоли. Радиоиммунологическим методом (РИА) в крови определяли уровни АКТГ, кортизола, дегидроэпиандростерон-сульфата (ДЭА-С), 17-гидроксипрогестерона (17-ОНП), альдостерона и активность ренина плазмы. Для изучения особенностей стероидогенеза использовали метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) с количественным определением в крови кортизола (F), кортизона (E), кортикостерона (B), 11-дезоксикортикостерона (DOC), 11-дезоксикортизола (S) и экскреции свободного кортизола (UFF) и свободного кортизона (UFE) с мочой. Проводили пробы с дексаметазоном и кортикотропином, которые оценивали по данным РИА и ОФ ВЭЖХ.

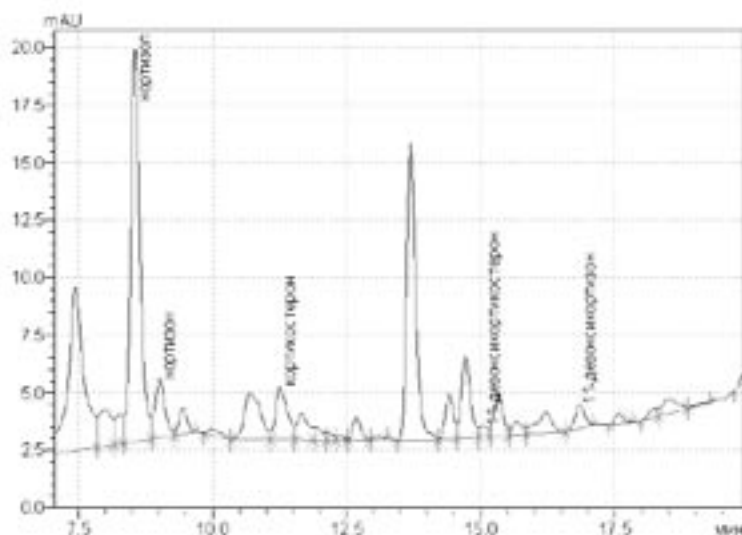


Рис. 1. Хроматограмма кортикостероидов крови больной Ц. с синдромом Иценко — Кушинга.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программной системы STATISTICA for WINDOWS (версия 5.5.). Количественные показатели представлены в виде Me (LQ–UQ), где Me — медиана, LQ — нижний квартиль, UQ — верхний квартиль. Статистически значимым считался критерий достоверности $p < 0,05$.

Результаты. У 22,5% больных с инциденталомой диагностирован субклинический синдром Иценко — Кушинга (СИК), у 10% больных — аденокарцинома. Стертая форма врожденной гиперплазии коры надпочечников (ВГКН) с дефектом 11 β -гидроксилазы диагностирована у 5,0% больных с инциденталомой и у 20,1% больных с ГКН.

У больных с субклиническим СИК обнаружено увеличение в крови уровней В, DOC, S, экскреции UFF и UFE, индексов F/E и UFF/UFE по сравнению со здоровыми (таблицы 1 и 2). При проведении пробы с дексаметазоном установлено снижение UFF и UFE менее чем на 50%, а уровней в крови В и S — менее чем на 35% по сравнению с их базальными уровнями. У большинства больных с СИК отмечены качественные изменения стероидного

профиля в виде дополнительных соединений с одинаковыми относительными параметрами удерживания: X1 и X2 (рис.1 и 2)

У больных с аденокарциномой обнаружено значительное повышение в крови уровней S до 48,3/33,0–55,5 нг/мл, $p < 0,0001$ и DOC до 20,6/15,0–25,9 нг/мл, $p < 0,0001$, что превышало соответствующие показатели у других обследованных (табл.1).

Снижение индекса UFF/UFE отмечено у больных с ГКН и у больных со стертой формой ВГКН (табл. 2), оно было связано с уменьшением экскреции UFF у большинства больных. Недостаточность 11 β -гидроксилазы установлена у 5,0% больных с инциденталомой и у 20,1% больных с гиперплазией коры надпочечников. Информативные критерии недостаточности 11 β -гидроксилазы установлены при проведении пробы с кортикотропином: увеличение уровней в крови S до 23,1/13,8–34,4 нг/мл, $p < 0,01$ и DOC до 6,6/2,7–9,3 нг/мл, $p < 0,01$, уменьшение F/S более чем в 2 раза, снижение прироста уровня кортикостерона и индекса F/E по сравнению со здоровыми. При проведении пробы с дексаметазоном у больных отмечено снижение

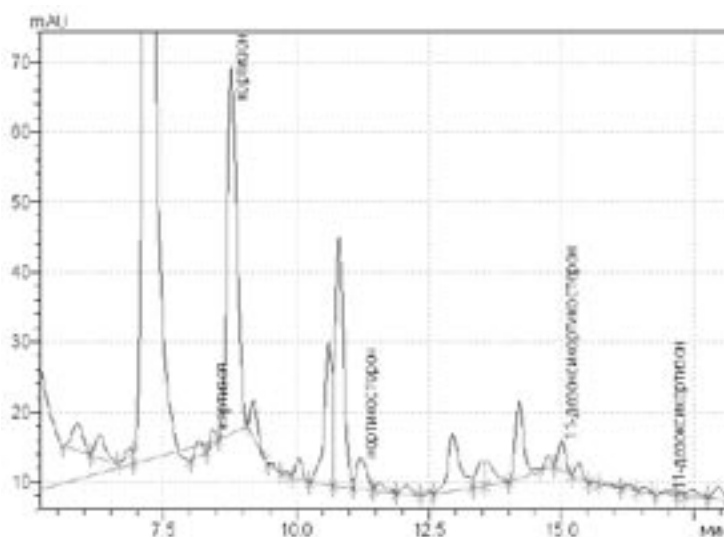


Рис. 2. Хроматограмма кортикостероидов мочи больной Ц. с синдромом Иценко — Кушинга.

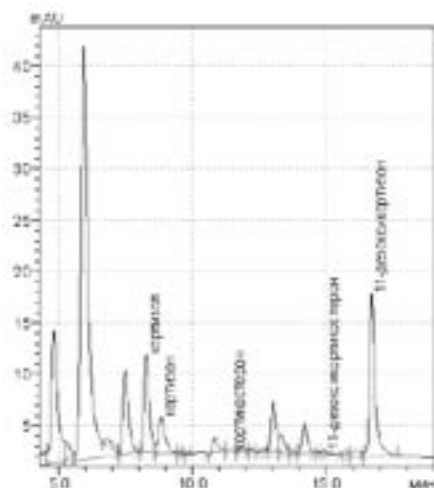


Рис. 3. Хроматограмма кортикостероидов крови больной К. с первичным иперальдостеронизмом

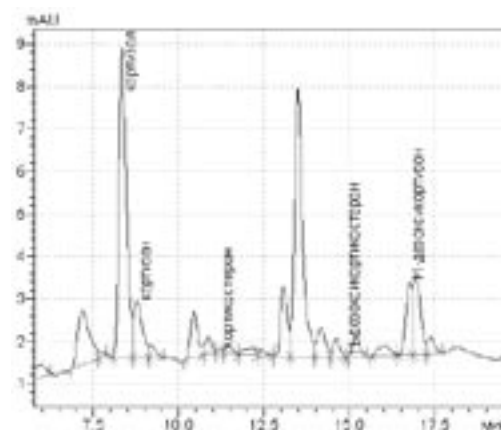


Рис.4 Хроматограмма кортикостероидов крови больного с аденомой коры надпочечников

уровня S до 3,6/1,5–11,3 нг/мл (более чем на 50%). Наши данные дают возможность предположить, что некоторые инциденталомы могут быть следствием длительного существования ВГКН.

Качественные изменения стероидного профиля в виде дополнительных соединений с одинаковыми относительными параметрами удерживания X1, X2, X3 и X4 (рис. 3, 4, 5) были отмечены у 69% больных с гормонально-неактивными опухолями (ГНО), у 85% больных с ВГКН. Полученные качественные изменения стероидного профиля являются дополнительными признаками нарушения надпочечникового стероидогенеза, что имеет значение для диагностики ранних стадий заболеваний коры надпочечников.

Определение количественного и качественного состава кортикостероидов в биологических жидкостях методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии у больных с образованиями коры надпочечников дает возможность осуществить раннюю диа-

гностику патологического процесса в надпочечниках, выработать дифференциально-диагностические критерии при различных опухолях, заподозрить в них злокачественный процесс, что значительно облегчает задачу эндокринологов и хирургов в отношении тактики лечения этих больных.

Выводы

1. Исследование качественных и количественных нарушений надпочечникового стероидогенеза методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяет на ранних стадиях диагностировать заболевания коры надпочечников.

2. Значительное увеличение содержания 11-дезоксикортизола и 11-дезоксикортикостерона у больных с новообразованием надпочечников с большой вероятностью может указывать на злокачественный характер опухоли.

3. У 22,5% больных с инциденталомой диагностирован субклинический синдром Иценко — Кушинга, информативные лабораторные критерии которого были получены при

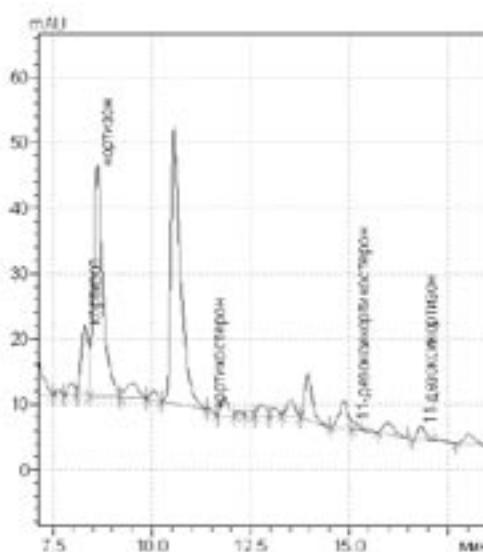


Рис. 5. Хроматограмма кортикостероидов мочи больной с гиперплазией коры надпочечников.

Таблица 1

Данные ОФ ВЭЖХ кортикостероидов крови при различных образованиях коры надпочечников

Группы обследованных	F нг/мл	E нг/мл	B нг/мл	DOC нг/мл	S нг/мл	F/E
1. Здоровые (n=33)	63,6 51,8–71,7	19,9 15,5–22,6	3,1 2,0–3,8	2,3 1,9–2,8	2,0 1,0–2,5	3,3 2,7–3,6
2. Гормонально-неактивные опухоли (n=83)	67,9 56,1–89,3	17,9 15,6–27,0	4,0 2,6–5,6	3,5 1,0–7,9	1,5 1,5–7,8	3,6 3,1–4,9
3. СИК — субклиническая форма (n=36)	109,0* 90,0–130,0	21,8* 16,9–29,6	6,8** 3,9–9,8	8,9** 5,0–11,8	5,0** 3,0–13,1	4,8** 4,4–5,4
4. Аденокарциномы (n=16)	95,1** 81,1–110,0	23,3* 16,0–32,5	12,8** 4,5–26,0	20,6** 15,0–25,9	48,3** 33,0–55,5	4,3 2,9–6,1
5. Гиперплазия коры надпочечников (n=29)	60,6 40,7–79,3	18,5 12,6–32,6	2,6 1,0–4,4	6,8* 2,0–13,0	3,7** 1,0–13,5	3,0 2,3–3,7

Примечания: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$ СИК — синдром Иценко — Кушинга

проведении пробы с дексаметазоном: снижение экскреции свободного кортизола и свободного кортизона с мочой менее чем на 50%, уменьшение в крови уровней кортикостерона и 11-дезоксикортизола менее чем на 35%.

4. Недостаточность 11 β -гидроксилазы установлена у 5,0% больных с инциденталомой и у 20,1% больных с гиперплазией коры надпочечников на основании увеличения в крови уровня 11-дезоксикортизола более чем в 3 раза при стимуляции кортикотропином и снижения

его уровня более чем на 70% при проведении пробы с дексаметазоном.

5. Наличие дополнительных соединений с одинаковыми относительными параметрами удерживания у больных с гиперплазией, с аденомой и с карциномой коры надпочечников указывает на идентичный характер надпочечникового стероидогенеза, что свидетельствует о значении патогенетических механизмов ВГКН в формировании опухолей коры надпочечников у части больных.

Таблица 2

Экскреция свободного кортизола и свободного кортизона с мочой у больных с различными образованиями коры надпочечников

Группы обследованных	UFF мкг/с	UFE мкг/с	UFF/UFE
1. Здоровые (n=30)	13,60 11,5–14,6	36,9 27,5–40,6	0,37 0,33–0,47
2. Гормонально-неактивные опухоли (n=83)	27,7* 17,0–39,2	50,6 36,6–61,2	0,56* 0,46–0,72
3. СИК — субклиническая форма (n=36)	63,7** 40,7–90,6	100,4** 60,1–153,0	0,65** 0,52–0,84
4. Гиперплазия коры надпочечников (n=29)	12,3 9,4–18,9	44,4 29,8–64,8	0,29* 0,21–0,52
5. Стертая форма ВГКН (n=18)	6,8* 4,4–8,3	28,4 23,2–38,3	0,23* 0,20–0,29

Примечания: * — $p < 0,05$ ** $p < 0,001$

СИК — синдром Иценко — Кушинга; ВГКН — врожденная гиперплазия коры надпочечников

Литература

1. Великанова Л.И. Особенности диагностики гормональной недостаточности у больных с опухолями коры надпочечников. // «Вестник хирургии», 2005 г., №3. – С.50–53.
2. Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Шафигулина З.Р., Крихели И.О. Особенности лабораторной диагностики субклинического синдрома Иценко — Кушинга.// Клинико-лабораторный консилиум. – 2006. – №.10–11 – С. 91–96.
3. Великанова Л.И., З.Р. Шафигулина, Н.В. Ворохобина, Бессонова Е.А, Сильницкий П.А. Диагностическое значение высокоэффективной жидкостной хроматографии кортикостероидов при заболеваниях гипофизарно-надпочечниковой системы// Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т.51. – №6. – С.9–12
4. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson A.B. et.al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol.88. – P.5593–5602.
5. Jareasch S., Kornely E., Kley H.K., Schlaghecke R. Adrenal incidentaloma and patients with homozygous or heterzygos congenital adrenal hyperplasia.// J.Clin.Endocr.Metab.1992; 74: 685–689.
6. Reincke M., Peter M., Sippell WG., Allolio B. //Impairment of 11 beta-hydroxylase but not 21-hydroxylase in adrenal 'incidentalomas'.// Eur.J. Endocrinol. 1997; 136: 196–200.
7. Suda T. Adrenal preclinical Cushing s syndrome //JMAJ. – 2002. – Vol. 45. – P. 172–174.
8. Ueshiba H., Segawa M., Hayashi T., Miyachi Y., Irie M. Serum profiles of steroid hormones in patients with Cushing s syndrome determined by a new HPLC/RIA method // Clin. Chem. – 1991. – V.37. – P.1329–1333.
9. White PS, Curnow KM, Parcoe L. Disorders of steroid 11 β -hydroxylase isozymes.// Endocr. Rev. 1994; 15: 421–438.