

◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 616.432-06:616.45]-07:616-008.84:577.175.53]-074:543.544.45

Л. И. Великанова, З. Р. Шафигуллина, Н. В. Ворохобина, П. А. Сильницкий, Е. А. Бессонова

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ КОРТИКОСТЕРОИДОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ

Кафедра эндокринологии им. акад. В. Г. Баранова (зав. — проф. Н. В. Ворохобина), НИО лабораторной диагностики (зав. — канд. биол. наук. Л. И. Великанова) Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования МЗ и СР РФ

Для оценки диагностического значения ВЭЖХ кортикостероидов в биологических жидкостях исследование проведено у 191 человека с различными опухолями коры надпочечников. По данным ВЭЖХ кортикостероидов в биологических жидкостях установлены признаки гормональной активности инциденталом, органического эндогенного гиперкортицизма и злокачественности образования. У части больных (15,5%) с инциденталомами коры надпочечников выявлены нарушения стероидогенеза, характерные для дефекта 11 β -ОН- или 17-ОН-гидроксилазы. Полученные данные позволяют диагностировать нарушения в надпочечниках на ранних этапах заболевания и определять показания к оперативному лечению.

Ключевые слова: инциденталомы надпочечников, синдром Иценко—Кушинга, высокоэффективная жидкостная хроматография, свободный кортизол мочи.

A hundred and ninety-one patients with different adrenal cortical tumors were studied to assess the diagnostic value of HPLC of corticosteroids in the biological fluids. HPLC of corticosteroids in the biological fluids revealed the signs of the hormonal activity of incidentalomas, organic endogenous hypercorticism, and mass malignancy. Some patients with adrenal cortical incidentalomas (15.5%) were found to have impaired steroid formation that is typical of 11 β -OH- or 17-OH-hydroxylase deficiencies. The findings allow one to diagnose adrenal disorders at the early stages of disease and to define indications for surgical treatment.

Key words: adrenal incidentalomas, Icenko-Cushing syndrome, high performance liquid chromatography, free urinary cortisol.

Заболевания, протекающие с нарушением функции гипоталамико-надпочечниковой системы, всегда привлекали пристальное внимание эндокринологов ввиду сложности их диагностики и лечения [2]. В последние годы в связи с развитием современных технологий и диагностических возможностей отмечается значительный рост числа больных с патологией надпочечников, в том числе со случайно выявленными новообразованиями или так называемыми инциденталомами надпочечников [4]. Несмотря на достигнутые успехи в этой области, эндокринологи часто сталкиваются с трудностями в ранней и дифференциальной диагностике эндогенного гиперкортицизма, различных опухолей надпочечников, стертой формы врожденной гиперплазии коры надпочечников (ВГКН). С помощью чувствительных и экспресс-методов иммуноферментного и радиоиммунного анализа не всегда можно решить эти проблемы. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) дает возможность определять различные стероидные профили крови и мочи, являющиеся наиболее ценными диагностическими тестами заболеваний, связанных с нарушением синтеза и метаболизма стероидных гормонов [11, 14]. Большинство исследований по диагностике заболеваний коры надпочечников посвящено определению уровня кортизола (F) и его метаболитов в моче методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии [12, 13] или методом ВЭЖХ-РИА [10]. Безусловный научно-практический интерес имеют разработка методов количественного определения и качественных характеристик инди-

видуальных кортикостероидов и оценка их дифференциально-диагностической значимости.

Материалы и методы

Обследован 191 больной в возрасте от 25 до 75 лет (средний возраст $49,5 \pm 1,21$ года) с опухолями коры надпочечников: 131 — с инциденталомами, 24 — с синдромом Иценко—Кушинга (СИК) гипоталамического генеза (СИК-ГГ), 16 — с СИК надпочечникового генеза (СИК-НГ) и 16 — со злокачественными опухолями коры надпочечников без клинических проявлений гормональной активности. Контрольную группу составили 25 практически здоровых людей (табл. 1). Среди больных с инциденталомами коры надпочечников преобладали женщины (69,6%), из них большинство (67%) в возрасте 50—60 лет. Диагноз СИК ставили на основании совокупности клинико-анамнестических данных, показателей биохимических, гормональных исследований, методов лучевой диагностики. У части больных диагноз был подтвержден результатами гистологического исследования удаленных опухолей. У всех больных с инциденталомами опухоль была выявлена случайно при проведении ультразвукового исследования или компьютерной томографии органов брюшной полости, предпринятых по поводу других заболеваний.

Для изучения особенностей стероидогенеза кортикостероидов и метаболизма F у больных с различными заболеваниями коры надпочечников мы оптимизировали условия жидкостной экстракции количественного определения уровней F, кортизо-

Таблица 1

Распределение больных по возрасту и полу

Группа обследованных	Число обследованных		Возраст, годы (медиана 25; 75)*
	женщины	мужчины	
Контрольная	20	5	29 (18; 44)
Инциденталомы (группа А)	48	31	53 (47; 60)
Инциденталомы (группа Б)	19	2	42 (40; 46)
СИК (субклиническая форма)	27	8	56 (52,5; 63,5)
СИК-ГГ	17	7	47 (42; 55)
СИК-НГ	12	4	40 (33; 44)
Аденокарциномы	11	5	49 (41; 58)

Примечание. * — 25-й и 75-й перцентили.

на (Е), кортикостерона (В), 11-дезоксикортикостерона (DOC), 11-дезоксикортизола (S) в сыворотке крови, а также экскреции свободного F (FF) и свободного E (FE) с мочой методом микроколоночной обращенно-фазовой ВЭЖХ [1].

Условия хроматографирования были следующими: хроматограф жидкостный (Чехия), насос HPP 4001, УФ-детектор LCD 2563 ($\lambda = 254$ нм), колонка Kromasil C-18 150 мм, 5 мкм, изократический режим элюирования, подвижная фаза 30 и 45% ацетонитрил—вода $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (1-я часть — 26:74 v/v, 2-я часть — 41:59 v/v), скорость элюента 0,3 мл/мин. Для улучшения разделения стероидов, имеющих близкие времена удерживания, применяли β -циклодекстрин. Предел обнаружения 1—2 нг/мл. Для анализа брали 1 мл сыворотки крови и 2 мл мочи.

Для оценки функционального состояния системы гипофиз—кора надпочечников выполняли функциональные пробы на подавление с 2 и 8 мг дексаметазона в сутки, определяли содержание F и АКТГ в 8 и 20 ч [3]. Топическую диагностику опухолей проводили с использованием методов ультразвукового исследования, компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии надпочечников и области турецкого седла.

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ Statistica (версия 5.11) с использованием комплекса непараметрических критериев.

Результаты и их обсуждение

При исследовании функции коры надпочечников с помощью традиционных методов анализа у 74,1% больных с инциденталомами уровня F крови, коэффициенты ритма секреции F и подавления F в пробе с 2 мг дексаметазона находились в пределах колебаний соответствующих показателей в контрольной группе (табл. 2). У 25,9% больных с инциденталомами отмечены нарушения регуляции гипофизарно-надпочечниковой системы. Увеличение коэффициента ритма секреции > 50 выявлено у 11 человек, увеличение коэффициента подавления > 50 — у 15, у 19 больных отмечен уровень АКТГ < 10 пг/мл, что позволило предположить у них субклинический СИК (см. табл. 2). Указанные изменения могут быть обусловлены автономной секрецией F узловым образованием, при этом скорость секреции F недостаточно высока для развития клинических проявлений, но значима для подавления некоторых звеньев оси гипофиз—кора надпочечников [6].

При анализе данных ВЭЖХ у больных с инциденталомами без нарушения регуляции гипофизарно-надпочечниковой системы мы обратили внимание на неоднородность стероидных профилей сыворотки крови и мочи. У большинства больных с инциденталомами (58,6%; группа А) установлены увеличение экскреции FF с мочой до $32,56 \pm 5,01$ мкг/с ($p < 0,02$) по сравнению с контрольной группой, увеличение уровня S в сыворотке крови и соотношений F/E крови и FF/FE мочи (табл. 3), а также качественные изменения стероидного профиля, что может указывать на гормональную активность данных опухолей.

У 15,5% больных с инциденталомами (группа Б) отмечено снижение уровня экскреции FF с мочой до $5,97 \pm 0,95$ мкг/с ($p < 0,05$) и соотношения FF/FE мочи до $0,23 \pm 0,01$ ($p < 0,02$) при увеличении предшественников стероидогенеза DOC и S. У 85% больных этой группы найдены качественные изменения стероидного профиля, характерные для больных с ВГКН, установленные нами в предыдущих исследованиях. Эти данные дают возможность предположить наличие дефекта ферментов биосинтеза кортикостероидов в самой опухоли или наличие стертых форм ВГКН у данных больных с дефектом 11β -ОН- или 17α -гидроксилазы [8].

Таблица 2

Показатели ритма секреции и подавления F при проведении пробы с 2 мг дексаметазона у больных с опухолями коры надпочечников ($M \pm m$)

Группа обследованных	F_9 , нмоль/л	F_{21} , нмоль/л	$(F_9/F_{21}) \cdot 100\%$	$(F_{21}/F_9) \cdot 100\%$
Контрольная ($n = 25$)	$391,9 \pm 16,8$	$134,5 \pm 11,9$	$30,9 \pm 2,2$	$14,0 \pm 1,1$
Инциденталомы ($n = 100$)	$433,3 \pm 20,4$	$169,2 \pm 13,5$	$40,9 \pm 3,38$	$16,9 \pm 2,7$
p	0,19	0,25	0,10	0,57
СИК (субклиническая форма) ($n = 45$)	$568,9 \pm 40,3$	$325,6 \pm 39,5$	$56,3 \pm 6,5$	$39,4 \pm 7,6$
p	0,00002	0,00006	0,0008	0,0002
СИК ($n = 16$)	$739 \pm 64,0$	$596,8 \pm 121,5$	$78,9 \pm 11,1$	$74,9 \pm 8,2$
p	0,00002	$< 0,00001$	0,00007	$< 0,00001$

Примечание. F_9 — уровень F в 9 ч; F_{21} — уровень F в 21 ч; $(F_9/F_{21}) \cdot 100\%$ — показатель ритма секреции F; $(F_{21}/F_9) \cdot 100\%$ — показатель степени подавления F (отношение уровня F с 2 мг дексаметазона к уровню F в 9 ч). Здесь и в табл. 3: M — среднее значение; m — ошибка среднего; p — достоверность различий с контрольной группой.

Таблица 3

Содержание кортикостероидов в сыворотке крови у обследованных больных ($M \pm m$)

№ п/п	Группа обследованных	Показатель, нг/мл					F/E
		F	E	B	DOC	S	
1	Контрольная ($n = 25$)	$63,6 \pm 3,26$	$19,9 \pm 1,05$	$3,8 \pm 0,25$	$3,9 \pm 0,44$	$1,4 \pm 0,14$	$3,3 \pm 0,17$
2	Инциденталомы (группа А; $n = 79$)	$84,0 \pm 5,15$	$23,1 \pm 1,38$	$6,6 \pm 0,72$	$7,2 \pm 1,93$	$5,1 \pm 0,78$	$4,2 \pm 0,21$
	p	0,16	0,60	0,24	0,83	0,05	0,02
3	Инциденталомы (группа Б; $n = 21$)	$72,8 \pm 10,76$	$23,6 \pm 3,29$	$8,5 \pm 2,73$	$27,3 \pm 11,06$	$8,7 \pm 2,16$	$3,4 \pm 0,36$
	p	0,66	0,47	0,16	0,002	0,03	0,89
4	СИК (субклиническая форма; $n = 35$)	$108,4 \pm 9,89$	$21,2 \pm 3,72$	$7,1 \pm 0,75$	$11,2 \pm 2,20$	$9,2 \pm 1,68$	$6,4 \pm 0,95$
	p	< 0,0001	0,16	0,04	0,03	0,002	0,0005
5	СИК-ГГ ($n = 24$)	$192,5 \pm 14,7$	$23,9 \pm 2,07$	$15,0 \pm 2,09$	$12,4 \pm 2,07$	$10,7 \pm 3,24$	$8,8 \pm 0,61$
	p	< 0,0001	0,21	0,0004	0,07	0,01	< 0,0001
6	СИК-НГ ($n = 16$)	$134,9 \pm 11,4$	$29,8 \pm 3,5$	$23,9 \pm 5,31$	$18,3 \pm 4,61$	$17,6 \pm 6,78$	$5,03 \pm 0,38$
	p	< 0,0001	< 0,002	< 0,0001	0,002	< 0,0001	0,009
7	Адренокарциномы ($n = 16$)	$94,7 \pm 3,99$	$26,6 \pm 3,20$	$22,4 \pm 6,51$	$20,7 \pm 2,54$	$43,3 \pm 6,4$	$4,4 \pm 0,81$
	p	0,008	0,1	< 0,0001	0,004	< 0,0001	0,14
	p_{4-5}	< 0,002	—	< 0,01	—	—	—
	p_{5-6}	< 0,005	—	< 0,02	—	—	< 0,0001

Субклинический СИК, диагностика которого представляет собой определенные трудности, по данным литературы, встречается в 12—16% при случайно выявленных новообразованиях [9]. Повышенная экскреция с мочой FF до $92,51 \pm 13,69$ мкг/с ($p < 0,0001$) и FE до $129,38 \pm 14,27$ мкг/с ($p < 0,0001$), повышенный уровень F, B и S в сыворотке крови, а также увеличение соотношений F/E крови и FF/FE мочи до $0,75 \pm 0,09$ ($p < 0,0001$), качественные изменения стероидного профиля, характерные для СИК, выявленные нами у 25,9% больных с инциденталомы, могут указывать на субклинический СИК у данных больных. При выявлении гормональных нарушений у пациентов с инциденталомы рекомендуется хирургическое лечение [4, 5].

У больных с СИК уровни F, B и S крови, экскреция FF и FE с мочой, а также соотношения F/E крови и FF/FE мочи достоверно выше, чем у больных с субклиническим СИК (см. табл. 3). У больных с СИК-ГГ соотношение F/E крови достоверно выше, а уровень B и S достоверно ниже, чем у больных с СИК-НГ (см. табл. 3). Значительное увеличение уровня F крови и экскреции FF и FE с мочой, а также увеличение соотношения F/E крови и FF/FE мочи, качественное изменение стероидного профиля являются признаками органического эндогенного гиперкортицизма по данным ВЭЖХ и могут быть использованы для его диагностики до проведения пробы с дексаметазоном.

Злокачественный характер новообразования надпочечника был верифицирован при гистологическом исследовании удаленной опухоли. У больных с адренокарциномой обнаружено значительное повышение концентрации S в крови по сравнению с таковой у пациентов с доброкачественными аденомами и увеличение, но в меньшей степени, уровня DOC. У некоторых пациентов с адренокарциномой содержание S достигало 79,2 нг/мл при норме до 1 нг/мл. Качественное изменение стероидного профиля в виде соединения между B и DOC

может иметь дополнительное значение при оценке злокачественности образования.

Таким образом, определение количественного и качественного состава кортикостероидов в биологических жидкостях методом обращенно-фазовой ВЭЖХ у больных с заболеваниями гипофизарно-надпочечниковой системы дает возможность осуществить раннюю диагностику патологического процесса в надпочечниках, выработать дифференциально-диагностические критерии при различных опухолях, заподозрить злокачественный процесс в них, что значительно облегчает задачу эндокринологов и хирургов в отношении тактики лечения этих больных.

Выводы

1. По данным ВЭЖХ признаками гормональной активности инциденталом (58,6%) являются нарушения стероидогенеза, характеризующиеся повышением экскреции свободного кортизола с мочой, уровня S в сыворотке крови, соотношений F/E крови и FF/FE мочи, качественные изменения стероидного профиля.

2. Снижение экскреции FF с мочой и соотношения FF/FE мочи при увеличении уровня B, DOC и S крови, отмеченное у 15,5% больных с инциденталомы, качественные изменения стероидного профиля могут свидетельствовать о стертой форме ВГКН у данных больных.

3. При органическом эндогенном гиперкортицизме по данным ВЭЖХ установлены повышение уровней F, B, S в сыворотке крови и экскреции FF и FE с мочой, повышение соотношения F/E крови и FF/FE мочи, качественные изменения стероидного профиля.

4. При СИК-ГГ увеличение уровня F и соотношения F/E достоверно выше, чем при СИК-НГ. Высокие уровни B и S характерны для опухолевого поражения надпочечников.

5. Значительное увеличение содержания S и DOC у больных с новообразованием надпочечни-

ков с большой вероятностью может указывать на злокачественный характер опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Великанова Л. И., Карцева Л. А., Бессонова Е. А. // Международная конф. по теоретическим вопросам адсорбции и адсорбционной хроматографии: Сборник тезисов докладов, 2001. — С. 55.
2. Гончаров Н. П., Каця Г. В., Колесникова Г. В. и др. // Пробл. эндокринол. — 2000. — Т. 46, № 5. — С. 21–25.
3. Синдром Ищенко—Кушинга / Под ред. В. Г. Баранова. — М., 1988.
4. Angeli A., Osella G., Ali A., Terzolo M. // Horm. Res. — 1997. — Vol. 47. — P. 279–283.
5. Chidiac R. M., Aron D. C. // Endocrinol. Metab. Clin. N. Am. — 1997. — Vol. 26. — P. 233–253.
6. Mantero F., Terzolo M., Arnaldi G. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 85. — P. 637–644.
7. Ozella G., Terzolo M., Boretta G. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1996. — Vol. 79. — P. 1532–1539.
8. Reincke M., Peter M., Sippell W. G., Allolio B. // Eur. J. Endocrinol. — 1997. — Vol. 136. — P. 196–200.
9. Rossi R., Tauchmanova L., Luciano A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 85. — P. 1440–1448.
10. Schonshofer M., Weber B., Oelkers W. et al. // Clin. Chem. — 1986. — Vol. 32. — P. 93–96.
11. Suzuki T., Sakuta H., Nakagawa K. et al. // Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi. — 1993. — Vol. 69. — P. 1139–1152.
12. Taylor R. L., Machacek D., Singh R. J. // Clin. Chem. — 2002. — Vol. 48. — P. 1511–1519.
13. Turpeinen U., Stenman U. H. // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 2003. — Vol. 63. — P. 143.
14. Ueshiba H., Segawa M., Hayashi T. et al. // Clin. Chem. — 1991. — Vol. 37. — P. 1329–1333.

Поступила 13.02.04

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 618.3-06:616.45-008.1-053.11-07

Л. А. Суплотова¹, Е. Б. Храмова², О. Б. Макарова¹, И. И. Кукарская³, Н. С. Брынза⁴,
О. Б. Старкова⁵, С. В. Фомина⁶

СКРИНИНГ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН НА ВРОЖДЕННУЮ ДИСФУНКЦИЮ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ: РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

¹Кафедра терапии с курсом эндокринологии ФПК и ППС, ²кафедра детских болезней педиатрического факультета Тюменской государственной медицинской академии, ³ГЛПУ ТО "Тюменский областной центр охраны материнства и детства", ⁴Департамент здравоохранения Тюменской области, ⁵Эндокринологический центр "Лик", ⁶Городской консультативно-диагностический центр, Тюмень

Целью настоящей работы явилось изучение динамики уровней дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭА-С) и 17-гидроксипрогестерона (17-ОНП) у беременных женщин в зависимости от срока беременности по результатам проводимого скрининга в Тюмени. В ходе исследования было проанализировано 2817 индивидуальных карт ведения беременных, из них у 1485 (52%) женщин был определен уровень ДЭА-С, у 230 (8,2%) — 17-ОНП. Анализ результатов гормонального обследования беременных на ДЭА-С показал, что у 71% женщин уровень ДЭА-С был повышен. В то же время повышение уровня 17-ОНП наблюдалось только у 15% обследованных.

При проведении корреляционного анализа между уровнями ДЭА-С и 17-ОНП не установлено зависимости между ними. При проведении перцентильного анализа уровня ДЭА-С установлено, что во всех триместрах медиана и 95-й перцентиль превышают нормативный показатель, несмотря на достоверное снижение уровня к концу срока беременности.

Данная работа показала, что уровень ДЭА-С не может служить единственным диагностическим критерием неклассического варианта дефицита 21-гидроксилазы у беременных, а также заставляет усомниться в абсолютной достоверности лабораторной нормы этого показателя в течение всего периода беременности.

Ключевые слова: скрининг, дегидроэпиандростерона сульфат, беременность, неклассические формы дефицита 21-гидроксилазы.

The purpose of the present study was to study the time course of changes in the levels of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) and 17-hydroxyprogesterone (17-HOP) in pregnant women in relation to the gestational time from the results of the screening made in Tyumen. The study analyzed 2,817 medical charts of pregnant women. The levels of DHEAS and 17-HOP had been determined in 1,485 (52%) and 230 (8.2%) women, respectively. Analysis of the results of hormonal tests for DHEAS indicated that this hormone was increased in 71% of the women. At the same time, the elevated levels of 17-HOP were observed only in 15% of the examinees. No correlation was found between the levels of DHEAS and 17-HOP. In all trimesters of pregnancy, the median and 95 percentile were above the normal range with their This study has shown that the level of DHEAS cannot be used as the only diagnostic criterion for the non-classical form of 21-hydroxylase deficiency in pregnant women and that there is some doubt as to whether the normal laboratory value of this parameter is absolute significant throughout the pregnancy.

Key words: screening, dehydroepiandrosterone sulfate, pregnancy, non-classical forms of 21-hydroxylase deficiency.

В связи с ухудшением демографических показателей в нашей стране одной из актуальных задач современного акушерства является сохранение каждой желанной беременности. В Тюмени, по данным Городского управления по здравоохранению, за последние 10 лет частота невынашивания беременности колеблется от 7,68 до 14,58%.

В структуре эндокринных заболеваний, создающих препятствие для зачатия и вынашивания беременности, преобладает синдром гиперандрогении.

По данным А. Т. Раисовой (1990 г.), 46—77% нарушений менструального цикла и 65—74% случаев бесплодия эндокринного генеза обусловлены гиперандрогенией.

Одной из основных причин развития гиперандрогении у женщин является врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН). Это группа заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе которых лежит дефект одного из ферментов, принимающих участие в биосинтезе