

К.Х. Григорян¹, З.Р. Шафигуллина¹, Е.А. Кухианидзе¹,
Н.В. Ворохобина¹, Л.И. Великанова¹, С.Б. Шустов²,
Е.Г. Стрельникова¹, А.В. Кузнецова¹

Сочетание классических проб и высокоэффективной жидкостной хроматографии кортикостероидов в диагностике субклинического синдрома Кушинга

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. *Анализируются стероидные профили биологических жидкостей, полученных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с классическими пробами, у 151 пациента с инциденталомой надпочечников. Субклинический синдром Кушинга диагностирован у 32 (21,2%) больных при снижении экскреции свободного кортизола и свободного кортизона с мочой менее 40% (больше нижних референтных значений) после пробы с 2 мг дексаметазона и уровня кортизола в крови более 90 нмоль/л после пробы с 1 мг дексаметазона. Увеличение соотношений кортикостерон/11-дегидрокортикостерон и свободный кортизол/свободный кортизон, уменьшение соотношения 6 β -гидроксикортизол/свободный кортизол, полученные у больных с субклиническим синдромом Кушинга, могут использоваться в качестве дополнительных лабораторных критериев в диагностике данного заболевания. Исследование стероидных профилей в биологических жидкостях с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в комплексе обследования больных, страдающих инциденталомой надпочечников, приобретает особое значение при значениях уровня кортизола в крови после пробы с дексаметазоном в диапазоне от 50 до 90 нмоль/л, соответствующего «серой зоне». Сочетание признаков субклинического синдрома Кушинга, полученных с помощью классических проб и высокоэффективной жидкостной хроматографии, повышает чувствительность и улучшает диагностику данного заболевания.*

Ключевые слова: *инциденталомы надпочечников, субклинический синдром Кушинга, ожирение, высокоэффективная жидкостная хроматография, свободный кортизол в моче и в слюне, пробы с 1 и 2 мг дексаметазона, промежуточные продукты стероидогенеза.*

Введение. Инциденталомы надпочечников (ИН) является бессимптомным образованием надпочечников, случайно выявленным при проведении лучевой диагностики. В большинстве случаев ИН – это адренокортикальные аденомы. Однако они могут представлять собой формы патологии, требующие незамедлительного вмешательства (адренокарцинома, аденома, продуцирующая гормоны без четких клинических проявлений, или метастазы опухоли в надпочечник). У некоторых пациентов, страдающих ИН, выявляется та или иная степень автономной секреции кортизола. Такое состояние может быть расценено как субклинический синдром Кушинга (ССК). Несмотря на усовершенствование лабораторных методик диагностики, определенные трудности возникают в верификации заболеваний со скрытой гормональной активностью, особенно в диагностике ССК [7, 11, 24]. На сегодняшний день такие лабораторные методики исследования, как определение уровня кортизола в крови после пробы с дексаметазоном, уровня свободного кортизола в слюне (СКС) в 23 ч, экскреции свободного кортизола с мочой (СКМ) и уровня адренокортикотропина (АКТГ), используются в диагностике синдрома Иценко – Кушинга (СИК) [1, 8, 10, 11, 16, 25]. Однако ни одна из перечисленных

методик не обладает 100% точностью, и, следовательно, могут возникнуть определенные трудности в диагностике гиперкортицизма, особенно у больных с отсутствием клинических проявлений СИК. Ряд авторов [8, 9, 12, 20] отмечают повышение СКМ как при функциональном, так и органическом эндогенном гиперкортицизме. В.Е. Pearson Murphy [17] отмечает, что по крайней мере у 11% больных СИК экскреция СКМ находится в пределах нормы. Нарушение суточного ритма секреции кортизола встречается у 66,1% больных, страдающих ожирением и у пациентов, страдающих депрессией [5, 13]. По данным литературы у 12–16% больных со случайно выявленными образованиями надпочечников встречается ССК. Следовательно, важной задачей является выявление скрытого гиперкортицизма [14, 15, 21]. ССК диагностируется у больных, страдающих ИН, без явных клинических проявлений гиперкортицизма при наличии 2 из 4 признаков нарушения функции гипофизарно-надпочечниковой системы: автономная секреция кортизола, увеличение СКМ, нарушение ритма секреции кортизола, подавление секреции АКТГ [19, 23]. Однако имеющиеся критерии не всегда позволяют диагностировать ССК. Ряд заболеваний и состояний, таких как артериальная гипертензия, метаболический

синдром, остеопороз, панические атаки, тахикардия, могут маскировать гормональную активность образований надпочечников [7]. Представляется актуальной разработка новых, дополнительных информативных биохимических критериев ССК у больных с объемными образованиями надпочечников с определением предшественников кортизола и альдостерона при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [2–6, 18, 22].

Материалы и методы. Обследован 151 пациент, страдающий ИН (59 мужчин и 92 женщины), в возрасте $50,7 \pm 2,0$ лет, с размером опухоли менее 5 см, а также 26 пациентов, страдающих ожирением (8 мужчин и 18 женщин), в возрасте $32,5 \pm 2,0$ лет с индексом массы тела (ИМТ) $=37,5 \pm 2,0$ кг/м² и 25 здоровых лиц (9 мужчин и 16 женщин) без ожирения с ИМТ $=26,5 \pm 1,5$ кг/м². Уровни кортизола в 9 ч (Ку) и 21 ч (Кв), АКТГ в крови, СКС в 23 ч определяли, используя иммуноанализ. С целью исключения первичного гиперальдостеронизма и феохромоцитомы исследовали уровни альдостерона, ренина, метанефрина и норметанефрина в крови. Проводили пробы с дексаметазоном: с 1 мг (ППД-1) и 2 мг (ППД-2). ССК диагностировали при уровнях кортизола после ППД-1 больше 70 нмоль/л, СКС – больше 10 нмоль/л и АКТГ – меньше 10 пг/мл [3, 18, 22]. Для поиска дополнительных признаков ССК способом ВЭЖХ определяли уровни кортизола (F), кортизона (E), кортикостерона (B), 11-дегидрокортикостерона (A), 11-дезоксикортикостерона (DOC), 11-дезоксикортизола (S) в крови, экскрецию с мочой свободного кортизола (UFF), свободного кортизона (UFE), 6-гидрокортизола (6-OHF) и 18-гидрокортикостерона (U18-OHV). Экскрецию с мочой UFF и UFE исследовали в динамике проведения ППД-2. С помощью программной системы Statistica for Windows (версия 7) осуществлялась статистическая обработка данных. Результаты представлены в виде медианы (ME) и межквартильного интервала (LQ–UQ), с целью

сравнения которых использован непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимым считался критерий достоверности $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У 119 пациентов, страдающих ИН, ССК был исключен. Уровни Ку, Кв и кортизола в крови после ППД-1 ($31/23$ – 44 нмоль/л) и СКС ($7,4/5,9$ – 10 нмоль/л) у данных больных не отличались от здоровых лиц ($p > 0,05$). Среди данных пациентов, страдающих гормонально-неактивной аденомой (ГНА), были 27 больных, страдающих ожирением (ОЖ). ССК был диагностирован у 32 пациентов, страдающих ИН. Уровни Кв ($200/157$ – 245 нмоль/л), кортизола в крови после ППД-1 ($97/70$ – 135 нмоль/л) и СКС ($14/11$ – 17 нмоль/л) были выше, чем у здоровых лиц ($p < 0,03$). Специфичность уровня кортизола больше 70 нмоль/л после ППД-1 составила 72%, чувствительность – 91%. Для увеличения специфичности диагностики ССК пациенты, страдающие ССК, были разделены на 2 группы. 1-ю группу составил 21 больной, страдающий ССК и ОЖ с ИМТ $=32,3 \pm 1,4$ кг/м², 2-ю группу составили 11 пациентов без ОЖ с ИМТ $=27,4 \pm 1,6$ кг/м². Показатели больных, страдающих ССК и ОЖ, были сравнены как с группой здоровых лиц, так и с пациентами, страдающими ГНА и ОЖ с ИМТ $=33,5 \pm 1,3$ кг/м², и пациентами, страдающими ОЖ без образований надпочечников.

Увеличение СКС, уровня Кв в крови и соотношения Кв/Ку отмечено в группе больных, страдающих ОЖ и ССК и ОЖ. У больных, страдающих ССК без ОЖ и страдающих ГНА и ОЖ, был повышен только СКС. Кроме этого у пациентов, страдающих ССК и ОЖ, отмечено увеличение уровня кортизола после ППД-1 и ППД-2 как в сравнении со здоровыми лицами, так и с группой больных, страдающих ГНА и ОЖ ($p = 0,003$) и страдающих ОЖ без образований надпочечников, а у больных, страдающих ССК без ОЖ, был повышен уровень кортизола только после ППД-2. Уровень АКТГ в крови был снижен у пациентов обеих групп, страдающих ССК (табл. 1).

Таблица 1

Функциональное состояние гипофизарно-адреналовой системы у больных, страдающих ожирением и ГНА, а также ожирением и ССК по данным классических проб, основанных на методиках иммуноанализа, Ме/LQ–HQ

Показатель	Здоровые, n=25	Пациенты, страдающие ОЖ, n=26	Пациенты, страдающие ГНА и ОЖ, n=27	Пациенты, страдающие ССК		P ₂₋₅ =
				ИМТ < 30, кг/м ² , n=11	ИМТ > 30, кг/м ² , n=21	
	1	2	3	4	5	
АКТГ, пг/мл	27,1 16,0–39,2	24,4 14,6–32,4	10,7 7,3–16,4	10,4* 6,7–15,1	6,8** 5–10	0,001
Кортизол 9 ч (Ку), нмоль/л	387 340–438	384 254–520	373 308–426	378 339–458	418 371–486	0,22
Кортизол в 21 ч (Кв), нмоль/л	145 120–165	235** 191–427	125 77–207	194 102–231	213** 163–328	0,54
Кортизол на пробе с 1 мг дексаметазона, нмоль/л	32 24–40	37,7 28–53,3	32 27–69	72 61–97	131* 89–168	0,04
Кортизол на пробе с 2 мг дексаметазона, нмоль/л	38 30–47	28 13–45	45 39–68	73* 70–75	119*** 116–179	0,01
Свободный кортизол в слюне, нмоль/л	4,3 1,7–6,3	9,0* 6,9–11,8	7,4* 5,9–14,9	14,1*** 9,9–16,8	14,6*** 12,1–15,9	0,04

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,0001$ – по сравнению с группой здоровых лиц; P₂₋₅ – различия показателей больных, страдающих ССК и ожирением, по сравнению с показателями пациентов, страдающих ожирением.

Полученные данные указывают на наличие нарушений регуляции в системе гипофиз-кора надпочечников у пациентов, страдающих ожирением, более выраженные – в группе больных, страдающих ССК и ОЖ. Специфичность диагностики ССК составила 100% при уровне кортизола больше 92,7 нмоль/л после ППД-2 и уровне СКС больше 12 нмоль/л. Однако выявлено отсутствие достоверной разницы уровня СКС у больных, страдающих ССК и ОЖ, а также ГНА и ОЖ ($p > 0,05$), сохранение ритма секреции кортизола у 31% больных, страдающих ССК, и нарушение ритма секреции у 15% пациентов, страдающих ОЖ. Кроме того значения уровня кортизола после ППД-1 от 50–90 нмоль/л (в так называемой серой зоне) у 25% больных, страдающих ГНА и ОЖ затрудняли дифференциальный диагноз функционального и органического гиперкортицизма, а также ИН, что требовало поиска дополнительных лабораторных признаков ССК.

По данным ВЭЖХ отмечено повышение уровня кортикостерона в крови только у пациентов, страдающих ИН и ОЖ. Экскреция UFF и UFE была увеличена у больных, страдающих ОЖ, а также у пациентов, страдающих ССК, 1-й и 2-й групп. У пациентов, страдающих ГНА и ОЖ, от-

мечено повышение UFE (79/47–115 мкг/24 ч; $p=0,02$) и снижение соотношения UFF/UFE (0,3/0,2–0,5; $p=0,01$), что может указывать на уменьшение активности 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы-1. Увеличение соотношений В/А в крови и UFF/UFE у пациентов обеих групп, страдающих ССК, указывает на снижение активности 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа (11 β -ГСДГ-2). Повышение соотношения F/E у больных ССК отмечено только в сравнении с пациентами, страдающими ГНА и ОЖ (4,3/3,7–5,2, $p=0,04$). Уменьшение соотношения 6 β -ОНF/UFF, отмеченное у пациентов, страдающих ССК и ОЖ, может свидетельствовать о снижении активности фермента СYP3A4. При проведении ППД-2 экскреция UFF и UFE у больных, страдающих ССК обеих групп, была выше, чем у здоровых лиц, а также в сравнении с пациентами, страдающими ОЖ и ГНА и ОЖ (UFF – 7,3/5,7–9,8 мкг/24 ч, UFE – 15,7/13,3–19,5 мкг/24 ч). Кроме этого, данные показатели у пациентов, страдающих ССК и ОЖ, были снижены менее чем на 40% и были выше нижних референтных базальных значений здоровых лиц (табл. 2). Уровень 18-ОНВ в крови и экскреция его с мочой были повышены у пациентов 1-й и 2-й групп, страдающих ССК (табл. 2).

Таблица 2

Содержание кортикостероидов в крови и моче у больных, страдающих ожирением без образований надпочечников и ССК по данным ВЭЖХ, МЕ/LQ-HQ

Показатель	Здоровые, n=25	Пациенты, страдающие ожирением, n=26	Пациенты, страдающие ССК	
			ИМТ<30кг/м ² , n=11	ИМТ>30кг/м ² , n=21
Кортизол, нг/мл	78/69–91	101/85–153*	86/82–94	105/ 86–127* $p=0,003$
Кортикостерон, нг/мл	2,1/1,5–2,5	1,3/0,5–2,1	1,6/1,0–3,7	3,0/1,6–9,8* $p=0,04$
Кортизон, нг/мл	18/16–21	22/19–27	17/16–21	15/13–20
11-дезоксикортизол, нг/мл	0,8/0,5–1,0	0,5/0,3–0,7	1,0/0,5–2,0	1,5/0,5–4,7*
11-дегидрокортикостерон, нг/мл	1,7/1,5–2,1	2,4/0,9–4,2	0,6/0,5–1,0	1,7/0,5–2,9
18-гидроксикортикостерон, нг/мл	0,9/0,5–1,0	1,2/0,5–2,6	1,9/1,9–4,3**	1,5/1,2–2,1**
Соотношение кортизол/кортизон	4,4/4,0–5,3	5,2/3,5–6,8	5,4/4,4–6,0	6,6/4,2–8,8**
Соотношение кортикостерон/11-дегидрокортикостерон	1,3/1,0–1,7	0,6/0,4–1,5	1,9/1,3–5,6*	3,5/2,1–8,2* $p=0,03$
Свободный кортизол мочи (UFF), мкг/24 ч	20/15–23	31/25–39**	41/ 40–46**	31/22–53** $p=0,005$
Свободный кортизон мочи (UFE), мкг/24 ч	53/40–62	72/59–87*	78/70–84*	80/63–103** $p=0,001$
6 β -гидроксикортизол мочи (6 β ОНF), мкг/24 ч	137/68–200	145/89–176	211/98–399	101/92–197
18-гидроксикортикостерон мочи, мкг/24 ч	14/12–22	21/15–35	33/18–37*	33/30–35*
Соотношение UFF/UFE	0,4/0,3–0,4	0,41/0,37–0,5	0,58/0,51–0,67*	0,54/0,4–0,7* $p=0,001$
Соотношение 6 β ОНF/UFF	7,1/5,0–9,2	5,4/4,2–6,2	4,3/2,7–9,3	3,5/2,2–5,0** $p=0,001$
UFF после пробы с 2 мг дексаметазона	4,0/3,1–4,9	7,8/5,8–10	16,2/15,1–18,3**	25/16–33* $p=0,03$
UFE после пробы с 2 мг дексаметазона	8,1/7,0–9,2	11/8–13	21,5/19,9–25,5*	58/41–81* $p=0,01$

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,0001$ – по сравнению с группой здоровых лиц; p – различия показателей больных, страдающих ССК и ожирением по сравнению с показателями пациентов, страдающих ожирением.

Таким образом, по данным ВЭЖХ отмечены следующие дополнительные диагностические признаки ССК:

- снижение менее чем на 40% экскреции UFF (>10 мкг/24 ч) и UFE (>20 мкг/24 ч) и значения данных показателей больше нижних референтных значений при проведении ППД-2;

- повышение соотношений UFF/UFE (>0,5), F/E(>6,0) и В/А (>2,0);

- снижение соотношения 6-ОНF/UFF (<5,0).

Сочетание признаков ССК по данным ВЭЖХ с уровнем кортизола после ППД-2 более 90 нмоль/л повышает чувствительность диагностики ССК до 100%.

Определение СКМ, СКС, АКТГ и уровней кортизола в крови в динамике проведения пробы с дексаметазоном является стандартным и используется в дифференциальной диагностике различных форм гиперкортицизма. Однако недостаточная специфичность и чувствительность перечисленных проб и отсутствие критериев для ССК требует поиска дополнительных лабораторных признаков данного заболевания. Нами выявлены частичные нарушения в регуляции гипоталамо-надпочечниковой системы у лиц, страдающих ожирением. Кроме того, у больных, страдающих ИН и ОЖ, а также ИН без ОЖ, на основании сочетания стандартных проб иммуноанализа и исследования стероидных профилей в крови и моче методом ВЭЖХ выявлены признаки ССК. Для поиска наиболее информативных значений признаков ССК показатели больных, страдающих ССК, были сравнены как с группой здоровых лиц, так и с группой больных, страдающих ОЖ без образований надпочечников, а также с группой пациентов, страдающих ГНА и ОЖ. Это позволило выявить наиболее информативные признаки ССК как среди классических проб (СКС и уровни кортизола при проведении ППД-1 и ППД-2), так и по данным ВЭЖХ (значения UFF и UFE при проведении ППД-2, соотношений UFF/UFE, кортикостерон/11-дегидрокортикостерон и $6\beta\text{-ОНF/UFF}$), которые отсутствовали у больных, страдающих ОЖ и ГНА и ОЖ. Сочетание признаков ССК, полученных с помощью классических проб и ВЭЖХ, повышает чувствительность и улучшает диагностику данного заболевания.

Выводы

1. Снижение экскреции UFF и UFE менее чем на 40% при проведении пробы с 2 мг дексаметазона, уменьшение соотношения 6-бета-ОНF/UFF , а также повышение соотношений UFF/UFE, F/E и В/А может использоваться в качестве дополнительных лабораторных критериев в диагностике субклинического синдрома Иценко – Кушинга.

2. Исследование стероидных профилей в биологических жидкостях с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в комплексе обследования больных, страдающих инциденталами надпочечников, приобретает особое значение при показателях уровня кортизола в крови после пробы

с дексаметазоном в диапазоне от 50 до 90 нмоль/л, соответствующего так называемой «серой зоне».

Литература

1. Белая, Ж.Е. Определение уровня кортизола в слюне на автоматическом иммунохимическом анализаторе COBAS E601 («ROCHE») для диагностики эндогенного гиперкортицизма среди пациентов с ожирением / Ж.Е. Белая [и др.] // Клин. лаб. диагностика. – 2011. – № 12. – С. 7–12.
2. Великанова, Л.И. Диагностическое значение высокоэффективной жидкостной хроматографии кортикостероидов при заболеваниях гипоталамо-надпочечниковой системы / Л.И. Великанова [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 2005. – Т. 51. – № 6. – С. 9–12.
3. Великанова, Л.И. Дифференциальная диагностика инциденталом коры надпочечников различными лабораторными технологиями / Л.И. Великанова [и др.] // Вестн. СЗГМУ им. И.И. Мечникова. – 2015. – Т. 7. – № 4. – С. 52–57.
4. Великанова, Л.И. Особенности лабораторной диагностики субклинического синдрома Иценко – Кушинга / Л.И. Великанова [и др.] // Клин.-лаб. консилиум. – 2006. – № 10–11. – С. 91–96.
5. Кубачева, К.К. Функциональный и органический гиперкортицизм у юношей с различным индексом массы тела / К.К. Кубачева [и др.] // Вестн. СПбМАПО. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 22–27.
6. Шафигуллина, З.Р. Диагностическое значение стероидных профилей биологических жидкостей у больных синдромом Иценко – Кушинга / З.Р. Шафигуллина [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 2015. – Т. 61, № 4. – С. 4–8.
7. Arnaldy, G. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement / G. Arnaldy [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 88. – № 12. – P. 5593–5602.
8. Crapo, L. Cushing's syndrome: a review of diagnostic tests / L. Crapo // Metabolism. – 1997. – Vol. 29, № 9. – P. 955–977.
9. Groote Veldman, R. On the mechanism of alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome / R. Groote Veldman, A.E. Meinders // Endocr. Rev. – 1996. – Vol. 17, № 3. – P. 262–268.
10. Kageyama, K. Evaluation of the diagnostic criteria for Cushing's disease in Japan / K. Kageyama [et al.] // Endocr J. – 2013. – Vol. 60, № 2. – P. 127–135.
11. Lin, CL. Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome / CL. Lin [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1997. – Vol. 82, № 1. – P. 151–155.
12. Mericq, M.V. High Fluid Intake Increases Urine Free Cortisol Excretion in Normal Subjects / M.V. Mericq, G.B. Cutler J.R. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1998. – Vol. 83, №2. – P. 682–684.
13. Newell-Price, J. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states / J. Newell-Price [et al.] // Endocr. Rev. – 1998. – Vol. 19, № 5. – P. 647–672.
14. Nieman, L.K. Diagnostic Tests for Cushing's Syndrome / L.K. Nieman // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2002. – Vol. 970, № 1. – P. 112–118.
15. Nieman, L.K. The Diagnosis of Cushing's Syndrome. An Endocrine Society Clinical Practice Guideline / L.K. Nieman [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 93, № 5. – P. 1526–1540.
16. Papanicolaou, D.A. Nighttime salivary cortisol: a useful test for the diagnosis of Cushing's syndrome / D.A. Papanicolaou [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 10, № 10. – P. 4515–4521.
17. Pearson, Murphy B.E. Lack of Specificity of Urinary Free Cortisol Determinations: Why Does It Continue? / B.E. Pearson Murphy // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, № 6. – P. 2258–2259.
18. Penning, T.M. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) of steroid hormone metabolites and its applications / T.M.

- Penning [et al.] // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2010. – Vol. 121, № 3–5. – P. 546–555.
19. Reincke, M. Preclinical Cushing's syndrome in adrenal «incidentalomas» comparison with adrenal Cushing's syndrome / M. Reincke [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1992. – Vol. 75, № 3. – P. 826–832.
 20. Roelfsema, F. Impact of Adiposity and Fat Distribution on the Dynamics of Adrenocorticotropin and Cortisol Rhythms // F. Roelfsema [et al.] // Curr. Obes. Rep. – 2014. – Vol. 3, № 3. – P. 387–395.
 21. Rossi, R. Subclinical Cushing's syndrome in Patients with Adrenal Incidentaloma: Clinical and Biochemical Features / R. Rossi [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, № 4. – P. 1440–1448.
 22. Stewart, P.M. Cortisol metabolism in human obesity: impaired cortisone-cortisol conversion in subjects with central adiposity / P.M. Stewart [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, № 3. – P. 1022–1027.
 23. Suda, T. Adrenal preclinical Cushing's syndrome / T. Suda // JMAJ. – 2002. – Vol. 45, № 4. – P. 172–174.
 24. Varughese, A.G. Hypercortisolism in Obesity-Associated Hypertension / A.G. Varughese [et al.] // Curr. Hypertens. Rep. – 2014. – Vol. 16, № 7. – P. 323–327.
 25. Viardot, A. Reproducibility of nighttime salivary cortisol and its use in the diagnosis of hypercortisolism compared with urinary free cortisol and overnight dexamethasone suppression test / A. Viardot [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, № 10. – P. 5730–5736.

K.Kh. Grigoryan, Z.R. Shafigullina, E.A. Kukhianidze, N.V. Vorokhobina,
L.I. Velikanova, S.B. Shustov, E.G. Strelnikova, A.V. Kuznetsova

Combination of classical tests and high performance liquid chromatography for glucocorticoids determination in the subclinical Cushing's syndrome diagnostics

Abstract. Analysis of biological fluids steroid profiling, obtained by combination of high performance liquid chromatography with classical tests in 151 patients with adrenal incidentalomas, is presented in this article. Subclinical Cushing's syndrome is diagnosed by the combination of following criteria: urinary excretion of free cortisol and free cortisone more than the lowest value of reference range after 2 mg dexamethasone suppression test with the blood cortisol level more than 90 nmol/l after 1 mg dexamethasone suppression test. Increased ratio of corticosterone/11-dehydrocorticosterone and urinary free cortisol/urinary free cortisone as well as decreased ratio of 6 β -hydroxycortisol/urinary free cortisol obtained in patients with subclinical Cushing's syndrome, might be used as an additional diagnostic criteria of this disease. The investigation of steroid profiles in biological liquids by high performance liquid chromatography for patients suffer from the adrenal incidentaloma has a great significance when blood cortisol level after the dexamethasone suppression test lays in the range from 50 to 90 nmol/l, which can be called as «the grey zone». The combination of subclinical symptoms of Cushing's syndrome, obtained by classical samples and high performance liquid chromatography improves sensitivity and improves the diagnosis of disease.

Key words: high-performance liquid chromatography, adrenal incidentaloma, subclinical Cushing's syndrome, obesity, free urinary cortisol, free saliva cortisol, 1mg and 2 mg dexamethasone suppression tests, intermediate products of steroidogenesis.

Контактный телефон: +7-921-379-32-95; e-mail: velikanovali@hotmail.ru