

УДК 616.45, 616.453

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov636729>

Особенности стероидного метаболома при синдроме Конншинга

Ж.В. Пальцман, С.Б. Шустов, Н.В. Ворохобина, В.В. Калугина, Л.И. Великанова, А.В. Кузнецова, Р.К. Галахова

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

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Сообщения о наличии совместной глюкокортикоид-минералокортикоидной активности у больных с синдромом Кушинга и первичным гиперальдостеронизмом встречаются в литературе на протяжении 50 лет, но доказательные исследования, посвященные данному вопросу, немногочисленны.

Цель — изучить минералокортикоидную и глюкокортикоидную функции коры надпочечников у больных с односторонними, двусторонними образованиями и двусторонней гиперплазией коры надпочечников на основе исследования стероидного метаболома мочи и крови методами хроматографии.

Материалы и методы. Обследовано 114 больных с кортикотропин-независимым синдромом Кушинга, автономной секрецией кортизола и первичным гиперальдостеронизмом. На основании функциональной активности и структурных изменений пациенты распределены в 8 подгрупп: больные синдромом Кушинга с кортикостеромой ($n = 19$), двусторонними образованиями коры надпочечников ($n = 9$) и макронодулярной двусторонней гиперплазией коры надпочечников ($n = 8$); пациенты с автономной секрецией кортизола с односторонним новообразованием надпочечника ($n = 19$), двусторонними новообразованиями надпочечников ($n = 14$) и макронодулярной двусторонней гиперплазией коры надпочечников ($n = 11$); больные первичным гиперальдостеронизмом с односторонним ($n = 15$) и двусторонними ($n = 19$) образованиями коры надпочечников. Группу контроля составили здоровые добровольцы ($n = 22$). В исследование не включали больных семейными формами первичного гиперальдостеронизма, аденокортикальным раком. Систему гипофиз – кора надпочечников оценивали классическими методами иммунохимического анализа с использованием функциональных проб. Метабономика кортикостероидов биологических жидкостей изучена методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии. Экскрецию кортикостероидов с мочой и уровни стероидов крови больных сравнивали с применением непараметрического критерия Манна – Уитни.

Результаты. С помощью хроматографических методов исследования показано наличие секреции минералокортикоидов и глюкокортикоидов у больных первичным гиперальдостеронизмом: у обследованных с синдромом Конна по сравнению с контрольным показателем выявлено повышение экскреции свободного кортизола 51 (27–90) нг/мл ($p = 0,001$) и его метаболита тетрагидрокортизола с мочой — 850 (720–994) мкг/сут ($p = 0,0002$). У больных первичным гиперальдостеронизмом с макронодулярной двусторонней гиперплазией коры надпочечников в сравнении с показателем у здоровых лиц определено повышение экскреции с мочой свободного кортизола 35 (32–72) мкг/сут ($p = 0,002$), тетрагидрокортизола — 1036 (490–1482) мкг/сут ($p = 0,0049$), 5 α -тетрагидрокортизола — 1194 (411–1873) мкг/сут ($p = 0,0048$) 5 α -тетрагидрокортикостерона — 339 (172–356) мкг/сут ($p = 0,0008$). У обследованных с синдромом Кушинга также продемонстрирована глюкокортикоид-минералокортикоидная активность. Пациентов с кортикотропин-независимым синдромом Кушинга и односторонней кортикостеромой отличало от группы контроля повышение уровня 18-гидроксикортикостерона крови 2,4 (1,0–4,3) нг/мл ($p = 0,001$) и мочи — 42 (30–123) мкг/сут ($p = 0,003$). У больных автономной секрецией кортизола и двусторонними объемными образованиями коры надпочечников по сравнению с показателями у здоровых лиц наблюдали более высокий уровень 18-гидроксикортикостерона крови — 2,7 (1,3–3,5) нг/мл ($p = 0,002$). Обследованным с автономной секрецией кортизола и единичной опухолью в отличие от группы контроля было свойственно повышение 18-гидроксикортикостерона мочи — 35 (33–55) мкг/сут ($p = 0,0048$).

Заключение. В результате изучения стероидного метаболома мочи и крови методами хроматографии выявлена смешанная глюкокортикоидная и минералокортикоидная активность клеток опухолей коркового вещества надпочечников у больных синдромом Кушинга, автономной секрецией кортизола и первичным гиперальдостеронизмом.

Ключевые слова: синдром Конншинга; первичный гиперальдостеронизм; синдром Кушинга; высокоэффективная жидкостная хроматография; газовая хромато-масс спектрометрия.

Как цитировать

Пальцман Ж.В., Шустов С.Б., Ворохобина Н.В., Калугина В.В., Великанова Л.И., Кузнецова А.В., Галахова Р.К. Особенности стероидного метаболома при синдроме Конншинга // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2024. Т. 16. № 4. С. 64–73. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov636729>

Рукопись получена: 04.10.2024

Рукопись одобрена: 28.10.2024

Опубликована online: 13.12.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov636729>

The steroid metabolism exploration for the diagnosis of Connshing syndrome

Zhanna V. Paltsman, Sergey B. Shustov, Natalia V. Vorokhobina, Valentina V. Kalugina, Ludmila I. Velikanova, Alla V. Kuznetsova, Ravilya K. Galakhova

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Reports of the synchronous glucocorticoid-mineralocorticoid activity in patients with Cushing's syndrome and primary hyperaldosteronism have been found in the literature for fifty years, but there are few evidence-based studies on this issue.

AIM: To study mineralocorticoid and glucocorticoid secretion in patients with unilateral, bilateral tumours and bilateral hyperplasia of the adrenal cortex exploring urine and blood steroid metabolomes by chromatography methods.

MATERIALS AND METHODS: 114 patients with corticotrophin-independent Cushing's syndrome, autonomous cortisol secretion and primary hyperaldosteronism were examined. The state of the pituitary-adrenal cortex system was assessed by classical methods of immunochemical analysis and functional tests. The corticosteroid metabolomics was studied in biological fluids using high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. In accordance with functional activities and type of hyperplasia, all the patients were divided into 8 subgroups: Cushing's syndrome and corticosteroma ($n = 19$), Cushing's syndrome and bilateral adenomas ($n = 9$), Cushing's syndrome and bilateral macronodular hyperplasia ($n = 8$); autonomus cortisol secretion and unilateral adrenal adenoma ($n = 19$), autonomus cortisol secretion and bilateral adenomas ($n = 14$) and autonomus cortisol secretion with bilateral macronodular hyperplasia ($n = 11$); primary hyperaldosteronism with unilateral aldosteroneproducing adrenal adenoma ($n = 15$) and bilateral hyperplasia ($n = 19$). The group of healthy subjects was a control group ($n = 22$). Family hyperaldosteronism and adrenocortical cancer were excluded. Patients' urinary corticosteroid excretion and blood steroid levels were compared using the nonparametric Mann-Whitney test.

RESULTS: Chromatographic methods have shown the presence of mineralocorticoid and glucocorticoid co-secretion in the patients with primary hyperaldosteronism: increased urine excretion of free cortisol 51 (27–90) ng/ml ($p = 0.001$) and its metabolite tetrahydrocortisol — 850 (720–994) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.0002$) in the patients with Conn syndrome. As well as free cortisol 35 (32–72) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.002$), tetrahydrocortisol — 1036 (490–1482) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.0049$), 5 α -tetrahydrocortisol — 1194 (411–1873) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.0048$), 5 α -tetrahydrocorticosterone — 339 (172–356) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.0008$) in the patients with bilateral adrenal hyperplasia and hyperaldosteronism in comparison with the healthy persons. Glucocorticoid-mineralocorticoid activity was found among the patients with autonomous cortisol secretion and bilateral adrenal tumours: by increased levels of 18-hydroxycorticosterone in blood — 2.7 (1.3–3.5) ng/ml ($p = 0.002$). The patients with autonomous cortisol secretion and a single tumour had an increase of 18-hydroxycorticosterone in urine — 35 (33–55) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.0048$) in comparison with the healthy subjects. The group of patients with corticotrophin-independent Cushing's syndrome and unilateral corticosteroma was distinguished from the control group by high level of 18-hydroxycorticosterone in blood — 2.4 (1.0–4.3) ng/ml ($p = 0.001$) and urine — 42 (30–123) $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ($p = 0.003$).

CONCLUSIONS: Mixed glucocorticoid and mineralocorticoid activity of adrenal cortical tumor cells was revealed among the patients with Cushing's syndrome, with autonomous cortisol secretion and primary hyperaldosteronism using chromatographic methods.

Keywords: Connshing's syndrome; primary hyperaldosteronism; Cushing's syndrome; high-performance liquid chromatography; gas chromatography-mass spectrometry.

To cite this article

Paltsman ZhV, Shustov SB, Vorokhobina NV, Kalugina VV, Velikanova LI, Kuznetsova AV, Galakhova RK. The steroid metabolism exploration for the diagnosis of Connshing syndrome. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2024;16(4):64–73. DOI: <https://doi.org/10.17816/mechnikov636729>

Received: 04.10.2024

Accepted: 28.10.2024

Published online: 13.12.2024

ОБОСНОВАНИЕ

В 2017 г. W. Arlt и соавт. выделили синдром сочетанной продукции глюко- и минералокортикоидов в отдельное понятие «синдром Конншинга» [1]. При анализе стероидных профилей мочи, полученных методом газовой хромато-масс-спектрометрии у больных первичным гиперальдостеронизмом, синдромом Кушинга и у пациентов с автономной секрецией кортизола, выявлена повышенная экскреция глюкокортикоидов с мочой во всех исследуемых группах по сравнению с показателем у здоровых лиц [1]. У больных первичным гиперальдостеронизмом и пациентов с манифестным синдромом Кушинга определена повышенная экскреция 6β -ОН-кортизола, тетрагидрокортизола, 5α -тетрагидрокортизола, α - и β -кортола, кортизона, α - и β -кортолона, тетрагидрокортизона, метаболитов глюкокортикоидов.

В стероидогенезе минерало- и глюкокортикоидов принимают участие ферменты CYP11B1 (P450c11, 11β -гидроксилаза) и CYP11B2 (P450c11AS, альдостеронсинтаза). Эти ферменты по-разному представлены в клубочковой и пучковой зонах. CYP11B1 катализирует окончательный синтез кортизола и кортикостерона из 11-дезоксикортизола и 11-дезоксикортикостерона соответственно. CYP11B2 отвечает за выработку альдостерона из 11-дезоксикортикостерона. Изменение активности CYP11B1 и CYP11B2 приводит к избытку глюкокортикоидов и минералокортикоидов соответственно [2].

Повышенная секреция альдостерона является наиболее распространенной эндокринной причиной вторичной артериальной гипертензии [3]. Исследования последних лет выявили у пациентов с аденомами, продуцирующими альдостерон, клинические симптомы, характерные в большей степени для гиперпродукции глюкокортикоидов: ожирение, дислипидемию, нарушение углеводного обмена, остеопороз, инсулинорезистентность, депрессию. Это подтверждено, в частности, увеличением экскреции с мочой глюкокортикоидов и их метаболитов, а также метаболитов андрогенов: 11-дезоксикортизола и 11β -ОН-андростерона [5, 7]. При синдроме Конншинга клиническая картина в большей степени обусловлена симптомами первичного гиперальдостеронизма. Сопутствующая секреция кортизола является легкой или умеренной [8, 9]. Визуализирующими методами можно определить как одностороннее, так и двустороннее поражение надпочечников [10]. Четкой взаимосвязи между определенной мутацией генов, выраженностью продукции глюкокортикоидов и подтипом первичного гиперальдостеронизма не выявлено [1, 9, 12, 13].

Диагностика синдрома Конншинга представляет определенные затруднения. В настоящее время существует небольшое количество работ по исследованию метаболома стероидных гормонов у больных данным синдромом [1, 14, 15]. Метод газовой хромато-масс-спектрометрии обладает наиболее высокой специфичностью для количественного определения экскреции надпочечниковых

стероидов и их метаболитов с мочой. Высокоэффективная жидкостная хроматография является высокопроизводительным и более доступным методом для исследования стероидных метаболомов крови и мочи больных с заболеваниями надпочечников. Таким образом, оба метода дополняют друг друга.

В данном исследовании для сравнительной оценки стероидного метаболома пациентов с первичным альдостеронизмом, субклиническим и явным синдромом Кушинга применены оба хроматографических метода.

Цель — оценить минералокортикоидную и глюкокортикоидную функции коры надпочечников у больных с односторонними и двусторонними образованиями, а также двусторонней гиперплазией коры надпочечников на основе исследования стероидного метаболома мочи и крови методами хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 114 пациентов с новообразованиями надпочечников, наблюдавшихся в центре патологии надпочечников клиники им. Э.Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И.И. Мечникова с 2018 по 2023 г. Они подписали информированное согласие на участие в исследовании. Работа выполнена в дизайне наблюдательного ретроспективного исследования. Критериями исключения являлись наличие семейных форм первичного гиперальдостеронизма, аденокортикального рака. Средний возраст больных составил 52 (33–65) года, включено 93 (81,57 %) женщины и 21 (18,42 %) мужчина, средний индекс массы тела составил 31,8 (24,2–39,9) кг/м². В группу контроля вошли 22 здоровых донора, сопоставимых с больными по возрасту и индексу массы тела, без структурных изменений надпочечников, с показателями гормонального обследования системы гипоталамо-надпочечники в пределах референсных значений.

Всем больным проводили оценку жалоб, анамнестических данных, физикальный осмотр. Методами иммунохроматографического анализа в сыворотке крови определены уровни адренокортикотропного гормона, кортизола в 9:00, в 20:00 и после подавляющего теста с 1 мг дексаметазона. Уровень альдостерона и активность ренина плазмы оценивали методом радиоиммунологического анализа, уровень ренина определяли методом иммуноферментного анализа. Для подтверждения диагноза первичного гиперальдостеронизма проведены нагрузочные тесты с физиологическим раствором. Всем больным с первичным гиперальдостеронизмом выполнен сравнительный селективный забор крови из вен надпочечников без стимуляции препаратами адренокортикотропного гормона короткого действия.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии исследовали содержание кортикостероидов в сыворотке крови и экскрецию с мочой свободного кортизола, свободного кортизона, метаболита кортизола

6 β -гидроксикортизола, 18-гидроксикортикостерона. Исследования выполняли в научно-исследовательской лаборатории хроматографии СЗГМУ им. И.И. Мечникова на жидкостном хроматографе (Agilent 1220, США) с диодно-матричным спектрофотометрическим детектором в условиях градиентного элюирования с использованием колонки Zorbax 2,1 мм $\times$ 50 мм $\times$ 1,8 мкл.

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии определяли экскрецию метаболитов и предшественников глюко- и минералокортикоидов, андрогенов и прогестагенов с суточной мочой. Исследование выполняли на хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ8050 в научно-исследовательской лаборатории хроматографии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Компьютерная томография органов забрюшинного пространства с контрастированием проведена всем больным в дооперационном периоде.

Больным синдромом Конна и синдромом Кушинга выполнена односторонняя адреналэктомия. Решение о хирургическом лечении больных макронодулярной двусторонней гиперплазией надпочечников с автономной секрецией кортизола принимали путем консилиума с учетом клинических данных (прогрессирования артериальной гипертензии, сахарного диабета, ожирения, нарушений липидного обмена, наличия остеопороза и нейропсихологических осложнений гиперкортицизма), на основании результатов лабораторного обследования (степени снижения уровня адренокортикотропного гормона, повышения уровня свободного кортизола в суточной моче) и данных визуализирующих методов исследования (наличия крупных узлов размером 1 см и более, размеров надпочечников, а также денситометрической плотности у 4 пациентов).

Гистологическое исследование послеоперационного материала проводили на основании классической шкалы Lawrence M. Weiss — стандарта для определения злокачественности новообразований надпочечников [16].

На основании клинической картины и структурных изменений коры надпочечников больные распределены в подгруппы: 1 — больные синдромом Кушинга с кортикостеромой ($n = 19$), 2 — больные с гиперкортицизмом с двусторонними объемными образованиями надпочечников ($n = 9$), 3 — больные с синдромом Кушинга с макронодулярной двусторонней гиперплазией коры надпочечников ($n = 8$), 4 — больные с автономной секрецией кортизола с односторонним новообразованием надпочечника ($n = 19$), 5 — больные с автономной секрецией кортизола с двусторонними новообразованиями надпочечников ($n = 14$), 6 — больные с автономной секрецией кортизола с макронодулярной двусторонней гиперплазией надпочечников ($n = 11$). На основании данных сравнительного селективного забора крови из вен надпочечников пациенты были распределены в две подгруппы: 7 — больные первичным гиперальдостеронизмом с альдостеромой ($n = 15$) и 8 — больные первичным

гиперальдостеронизмом с двусторонними объемными образованиями надпочечников ($n = 19$).

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Statistica for Windows (версия 10) и GraphPadPrism 6. Экскреция кортикостероидов с мочой и уровни стероидов крови больных сравнивали с применением непараметрического критерия Манна – Уитни, так как наблюдали ненормальное распределение всех показателей в соответствии с критерием Колмогорова – Смирнова. Статически значимыми считали значения критерия $p < 0,005$ с учетом поправки Бонферрони. Основные количественные показатели представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнительном анализе стероидных метаболитов крови, изученных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, определен более высокий уровень кортизола крови у больных синдромом Кушинга с единичной кортикостеромой (подгруппы 1) по сравнению с показателем у здоровых лиц (табл. 1). У обследованных с синдромом Конна уровень главного глюкокортикоида крови не отличался от такового у больных синдромом Кушинга (подгрупп 1, 2, 3) и пациентов с автономной секрецией кортизола (подгрупп 4, 5, 6). У больных первичным гиперальдостеронизмом с двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников уровень кортизола крови был меньше, чем у обследованных подгруппы 1, но не отличался от такового у больных синдромом Конна.

Значения кортизола крови не различались между больными синдромом Кушинга, автономной секрецией кортизола и первичным гиперальдостеронизмом в зависимости от подгруппы (табл. 1). У обследованных с синдромом Кушинга и двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников уровень кортизола крови был ниже, чем в группе контроля.

Во всех подгруппах больных с объемными образованиями коры надпочечников экскреция с мочой свободного кортизола, определенная методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, была выше, чем в контрольной группе (табл. 1). Показатели экскреции с мочой свободного кортизола у больных первичным гиперальдостеронизмом в зависимости от подгруппы не различались. Не выявлено различий между значениями экскреции главного глюкокортикоида у больных с единичными альдостеромами и обследованными с синдромом Кушинга (подгрупп 1, 2, 3) и автономной секрецией кортизола (подгрупп 4, 5, 6). У больных первичным гиперальдостеронизмом с двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников (подгруппы 8) экскреция свободного кортизола с мочой была ниже, чем у обследованных с синдромом Кушинга и единичными опухолями. Различий по экскреции свободного кортизола с мочой между больными подгруппы 8 и пациентами с синдромом Кушинга

Таблица 1. Особенности стероидных метаболитов крови и мочи, исследованных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, у пациентов с объемными образованиями коркового вещества надпочечников

Table 1. Features of blood and urine steroid metabololomes studied by high-performance liquid chromatography in the patients with adrenocortical tumours

Группа контроля (ГК; n = 22)	Подгруппы больных							
	1 (n = 19)	2 (n = 9)	3 (n = 8)	4 (n = 19)	5 (n = 14)	6 (n = 11)	7 (n = 15)	8 (n = 19)
Уровень кортизола крови, нг/мл								
83 (71–96)	127 (116–168) $P_{ГК-1} < 0,0001$	98 (70–128)	103 (67–138)	101 (94–177)	89 (71–107) $P_{1-5} = 0,0041$	131 (74–87)	107 (81–121)	83 (68–94) $P_{1-8} = 0,003$
Уровень кортизона крови, нг/мл								
18 (17–21)	17 (15–21)	14 (10–20)	12 (11–15) $P_{ГК-3} = 0,0006$	15 (12–20)	15 (12–16,)	17 (11–22)	13 (9–18)	14 (11–18)
Экскреция с мочой свободного кортизола, мкг/сутки								
18 (12–24)	124 (50–281) $P_{ГК-1} = 0,0001$	47 (36–86) $P_{ГК-2} = 0,0002$	45 (20–87) $P_{ГК-3} = 0,004$	45 (22–51) $P_{ГК-4} = 0,0005$	29 (20–46) $P_{1-5} = 0,001$	36 (20–42) $P_{1-6} = 0,001$	51 (27–90) $P_{ГК-7} = 0,001$	35 (32–72) $P_{ГК-8} = 0,002$ $P_{1-8} = 0,0041$
Экскреция с мочой свободного кортизона, мкг/сутки								
55 (38–66)	251 (133–425) $P_{ГК-1} = 0,0001$	80 (69–238)	87 (82–140)	89 (47–107)	88 (71–138)	47 (40–72) $P_{1-6} = 0,001$	151 (52–428)	81 (47–114)
Уровень 18-ОН-кортикостерона крови, нг/мл								
0,7 (0,5–1,3)	2,4 (1,0–4,3) $P_{ГК-1} = 0,001$	1,7 (1,3–2,9)	1,8 (1,4–2,6)	1,9 (1,0–2,6)	2,7 (1,3–3,5) $P_{ГК-5} = 0,002$	1,5 (0,4–1,9)	2,0 (1,5–5,1) $P_{ГК-7} < 0,0001$	1,2 (0,7–2,9)
Уровень 18-ОН-кортикостерона мочи, мкг/сутки								
15 (12–29)	42 (30–123) $P_{ГК-1} = 0,003$	42 (15–105)	23 (14–61)	35 (33–55) $P_{ГК-4} = 0,0048$	27 (12–30)	26 (14–38)	85 (30–198) $P_{ГК-7} = 0,0003$ $P_{1-7} = 0,001$ $P_{2-7} = 0,0012$ $P_{3-7} = 0,0001$ $P_{4-7} = 0,002$ $P_{5-7} = 0,0001$ $P_{6-7} = 0,0001$ $P_{7-8} = 0,003$	36 (17–49) $P_{ГК-8} = 0,001$

Примечание. Количественные показатели представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. 1 — больные синдромом Кушинга с кортикостеромой; 2 — больные синдромом Кушинга с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников; 3 — больные синдромом Кушинга с макронодулярной гиперплазией коры надпочечников; 4 — больные автономной секрецией кортизола с односторонним объемным образованием коры надпочечников; 5 — больные автономной секрецией кортизола с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников; 6 — больные автономной секрецией кортизола с макронодулярной гиперплазией коры надпочечников; 7 — больные первичным гиперальдостеронизмом с односторонним гиперальдостеронизмом коры надпочечников; 8 — больные первичным гиперальдостеронизмом с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников.

Таблица 2. Особенности стероидного метаболома мочи, исследованного методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у пациентов с объемными образованиями коркового вещества надпочечников

Table 2. Features of the urine steroid metabolome studied by gas chromatography-mass spectrometry in the patients with adrenocortical tumours

Группа контроля (ГК; n = 22)	Подгруппы больных							
	1 (n = 19)	2 (n = 9)	3 (n = 8)	4 (n = 19)	5 (n = 14)	6 (n = 11)	7 (n = 15)	8 (n = 19)
Экскреция с мочой тетрагидрокортизола, мкг/сут								
466 (373–636)	3212 (1984–4324) $p_{ГК-1} < 0,0001$ $p_{1-8} = 0,003$	1648 (1288–2085) $p_{ГК-2} = 0,0007$	2571 (1000–4404) $p_{ГК-3} = 0,0002$	811 (708–990) $p_{ГК-4} = 0,0002$ $p_{1-4} = 0,0043$	762 (440–1427)	1557 (1036–2000)	850 (720–994) $p_{1-7} = 0,0042$ $p_{ГК-7} = 0,0002$	1036 (490–1482) $p_{ГК-8} = 0,0049$
Экскреция с мочой 5α-тетрагидрокортизола, мкг/сут								
391 (271–743)	1004 (398–1189)	1105 (851–1376)	1252 (222–2284)	686 (470–1018)	769 (234–1722)	1246 (1081–1354) $p_{ГК-6} = 0,003$	719 (503–760)	1194 (411–1873) $p_{ГК-8} = 0,0048$
Экскреция с мочой тетрагидрокортикостерона, мкг/сут								
78 (45–102)	300 (148–762) $p_{ГК-1} < 0,0001$	210 (128–224)	816 (261–829) $p_{ГК-3} = 0,0007$	180 (108–265) $p_{ГК-4} < 0,0001$	60 (50–101) $p_{ГК-5} < 0,003$	159 (99–348)	141 (124–183)	90 (57–116) $p_{1-8} < 0,0042$
Экскреция с мочой 5α-тетрагидрокортикостерона, мкг/сут								
100 (35–199)	176 (58–252)	344 (125–552)	634 (332–804) $p_{ГК-3} = 0,0041$	237 (179–419) $p_{ГК-4} = 0,0004$	129 (66–243)	326 (242–450) $p_{ГК-6} = 0,003$	100 (35–199)	339 (172–356) $p_{ГК-8} = 0,0008$
Признак активности 11β-гидроксилазы по формуле (5β-THF + 5α-THF + THE)/THS								
141 (66–209)	20 (15–28) $p_{ГК-1} = 0,0001$	34 (21–37)	9 (7–12) $p_{ГК-3} = 0,003$	35 (30–74)	39 (18–80)	29 (21–35)	80 (72–211) $p_{1-7} = 0,003$ $p_{2-7} = 0,0041$ $p_{3-7} = 0,003$ $p_{6-7} = 0,0042$	92 (69–300) $p_{1-8} = 0,001$ $p_{2-8} = 0,0040$ $p_{3-8} = 0,002$ $p_{6-8} = 0,0039$

Примечание. Количественные показатели представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. 1 — больные синдромом Кушинга с кортикостеромой; 2 — больные синдромом Кушинга с двусторонним объемным образованием коры надпочечников; 3 — больные синдромом Кушинга с макронодулярной гиперплазией коры надпочечников; 4 — больные автономной секрецией кортизола с односторонним объемным образованием коры надпочечников; 5 — больные автономной секрецией кортизола с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников; 6 — больные автономной секрецией кортизола с макронодулярной гиперплазией коры надпочечников; 7 — больные первичным гиперальдостеронизмом с односторонним объемным образованием коры надпочечников; 8 — больные первичным гиперальдостеронизмом с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников; 5β-THF + 5α-THF — сумма экскреций с мочой 5α- и 5β-тетрагидрокортизола; THE — экскреция тетрагидрокортизола; THS — экскреция тетрагидро-11-дезоксикортизола.

и двусторонними объемными образованиями надпочечников, двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников и автономной секрецией кортизола (подгрупп 4, 5, 6) не выявлено.

По экскреции с мочой свободного кортизона подгруппы всех обследованных больных не различались.

Уровень 18-гидроксикортикостерона крови, предшественника главного минералокортикоида альдостерона, был выше у больных синдромом Кушинга с одиночными кортикостеромами, обследованных с автономной секрецией кортизола и двусторонними объемными образованиями надпочечников и больных синдромом Конна, чем у лиц без патологии эндокринной системы (табл. 1). Различий в значениях 18-гидроксикортикостерона крови между больными синдромом Кушинга, автономной секрецией кортизола и первичным гиперальдостеронизмом в зависимости от подгрупп не определено.

Экскреция с мочой 18-гидроксикортикостерона была выше у больных синдромом Кушинга и автономной секрецией кортизола с солитарными опухолями надпочечников и у всех обследованных с первичным гиперальдостеронизмом, чем в группе контроля.

При исследовании стероидных метаболитов мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии определена высокая экскреция с мочой тетрагидрокортизола (метаболита кортизола) во всех подгруппах больных с первичным гиперальдостеронизмом по сравнению с показателем у лиц без патологии эндокринной системы (табл. 2). Экскреция тетрагидрокортизола была выше у всех больных синдромом Кушинга и автономной секрецией кортизола с единичной опухолью коры надпочечников, чем в группе контроля. Определена более низкая экскреция тетрагидрокортизола у больных синдромом Конна по сравнению с показателем у больных синдромом Кушинга с односторонней кортикостеромой. Различия по экскреции тетрагидрокортизола между больными первичным гиперальдостеронизмом (подгрупп 7, 8) и больными синдромом Кушинга с двусторонними объемными образованиями коры надпочечников и двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников, а также автономной секрецией кортизола (подгрупп 4, 5, 6) не выявлены.

Наиболее высокая экскреция с мочой 5 α -тетрагидрокортизола определена у больных первичным гиперальдостеронизмом и автономной секрецией кортизола с двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников по сравнению с контрольным показателем (табл. 2). Различий по экскреции данного метаболита кортизола между подгруппами обследованных с первичным гиперальдостеронизмом, синдромом Кушинга и автономной секрецией кортизола не определено.

Экскреция с мочой тетрагидрокортикостерона (метаболита кортикостерона) была выше у больных синдромом Кушинга с единичными опухолями надпочечников, двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников и обследованных с автономной секрецией кортизола

(подгрупп 4, 5), чем в группе контроля. У больных первичным гиперальдостеронизмом с двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников экскреция данного метаболита была ниже, чем у обследованных подгруппы 1, но не отличалась от показателя у обследованных с синдромом Конна. Подгруппа больных альдостеромами не различалась по экскреции тетрагидрокортикостерона от обследованных с синдромом Кушинга (подгрупп 1, 2, 3) и автономной секрецией кортизола (подгрупп 4, 5, 6).

Высокая экскреция 5 α -тетрагидрокортикостерона обнаружена у больных первичным гиперальдостеронизмом с двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников в сравнении с контрольным показателем. По экскреции метаболита кортикостерона подгруппы больных первичным гиперальдостеронизмом, синдромом Кушинга и автономной секрецией кортизола не различались.

Показано уменьшение активности CYP11B1 у больных синдромом Кушинга с единичными новообразованиями и двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников при сравнении с контрольным показателем. У больных первичным гиперальдостеронизмом (подгрупп 7, 8) в отличие от обследованных с синдромом Кушинга и двусторонними опухолями надпочечников, двусторонней макронодулярной гиперплазией надпочечников и автономной секрецией кортизола (подгруппы 6) активность фермента CYP11B1 не была снижена (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью данного исследования было сравнение минерало- и глюкокортикоидной функции высокочувствительными хроматографическими методами у пациентов с образованиями коры надпочечников в дополнение к классическим способам диагностики. Для выявления особенностей синтеза и секреции кортикостероидов в зависимости от морфологических изменений коры надпочечников больные были разделены на подгруппы не только по клиническим характеристикам и гормональной активности клеток новообразований, определенной традиционными лабораторными методами, но и по результатам визуализирующего обследования надпочечников.

Хроматографическими методами подтверждено наличие смешанной глюкокортикоид-минералокортикоидной продукции как у больных первичным гиперальдостеронизмом, так и у обследованных с синдромом Кушинга и автономной секрецией кортизола. Наличие повышенной глюкокортикоидной секреции не зависело от структурных изменений коры надпочечников, определяющих развитие первичного гиперальдостеронизма, что согласуется с данными W. Arlt и соавт. [1]. Наибольшая минералокортикоидная активность была у больных синдромом Кушинга с одиночными аденомами. У обследованных данной подгруппы при сравнении со здоровыми лицами методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определены более высокие уровни метаболита предшественника

альдостерона в крови и суточной моче, сопоставимые со значениями у больных первичным гиперальдостеронизмом с макронодулярной двусторонней гиперплазией коры надпочечников.

Упоминания о смешанной кортикостероидной активности у пациентов с аденомами надпочечников встречаются в литературе с 1970-х гг. [17], однако патогенез развития данных опухолей до сих пор недостаточно изучен. В литературе представлены работы по иммуногистохимической оценке экспрессии CYP11B1 и CYP11B2 в ткани объемных образований, ко-секретирующих минералокортикоиды и глюкокортикоиды [18]. М. Murakami и соавт. выявили отрицательную корреляционную связь между внутриопухолевой концентрацией 18-оксокортизола и 18-гидрокси-кортизола и экспрессией 11 β -гидроксилазы в ткани новообразований [19]. Н. Гао и соавт. показали совместную экспрессию CYP11B1 и CYP11B2, а также наличие клеток, подобных клеткам пучковой зоны коры надпочечников, в опухолях больных первичным гиперальдостеронизмом с сочетанной избыточной секрецией глюкокортикоидов [18]. Возможно, наличие совместной глюкокортикоид-минералокортикоидной активности у больных синдромом Кушинга с единичными кортикостеромами также можно объяснить нарушениями экспрессии альдостерон-синтазы и дифференцировки клеток опухоли коры надпочечников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у разделения заболеваний по гормональной активности клеток новообразований коры надпочечников, определяемой классическими лабораторными методами, на синдром Кушинга, автономную секрецию кортизола и первичный гиперальдостеронизм нет четких границ. Необходимы дальнейшие исследования для понимания механизмов развития гормонально-активных опухолей коркового вещества надпочечников. В этом направлении исследований приоритетное значение имеют методы хроматографии, позволяющие изучить метаболику стероидных гормонов и активность ферментов стероидогенеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arlt W., Lang K., Sitch A.J., et al. Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism // JCI Insight. 2017. Vol. 2, N 8. P. e93136. doi: 10.1172/jci.insight.93136
2. Miller W.L., Auchus R.J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders // Endocr Rev. 2011. Vol. 32, N 1. P. 81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013
3. Демидова Т.Ю., Титова В.В. Сложности диагностики первичного гиперальдостеронизма // FOCUS Эндокринология. 2023. Т. 4, № 2. С. 59–68. EDN: ZLIQBY doi: 10.15829/2713-0177-2023-12
4. Wu V.C., Chang C.H., Wang C.Y., et al. Risk of fracture in primary aldosteronism: a population-based cohort study // J Bone Miner Res. 2017. Vol. 32, N 4. P. 743–752. doi: 10.1002/jbmr.3033

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Наибольший вклад распределен следующим образом: Ж.В. Пальцман — сбор и обработка материалов, ведение больных, написание текста обзор литературы; С.Б. Шустов, Н.В. Ворохобина, А.В. Кузнецова, Р.К. Галахова — концепция и дизайн исследования, внесение окончательных правок; В.В. Калугина — написание текста, статистическая обработка данных, обзор литературы; Л.И. Великанова — хроматографическое исследование, анализ и статистическая обработка данных.

Этический комитет. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом СЗГМУ им. И.И. Мечникова (№ 4 от 07.04.2021).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All the authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article as well as read and approved the final version before its publication.

Personal contribution of the authors: Zh.V. Paltsman — collection and processing of materials, patient management, text writing literature review; S.B. Shustov, N.V. Vorokhobina, A.V. Kuznetsova, R.K. Galakhova — concept and design of the study, making final edits; V.V. Kalugina — text writing, statistical data processing, literature review; L.I. Velikanova — gas chromatography-mass spectrometry, data analysis, statistical data processing.

Ethics approval. The present study protocol was approved by the local Ethics Committee of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (No. 4 dated 07.04.2021).

8. Юкина М.Ю., Нуралиева Н.Ф., Бельцевич Д.Г., и др. Макронодулярная двусторонняя гиперплазия надпочечников: патогенез и генетические аспекты // *Consilium Medicum*. 2016. Т. 18, № 1. С. 88–93. EDN: VWALAF doi: 10.26442/2075-1753_2016.1.88-93
9. Fallo F., Castellano I., Gomez-Sanchez C.E., et al. Histopathological and genetic characterization of aldosterone-producing adenomas with concurrent subclinical cortisol hypersecretion: a case series // *Endocrine*. 2017. Vol. 58, N 3. P. 503–512. doi: 10.1007/s12020-017-1295-4
10. Mete O., Erickson L.A., Juhlin C.C., et al. Overview of the 2022 WHO classification of adrenal cortical tumors // *Endocr Pathol*. 2022. Vol. 33, N 1. P. 155–196. doi: 10.1007/s12022-022-09710-8
11. Русаков В.Ф., Щербakov И.Е., Чинчук И.К., и др. Диагностическая значимость компьютерной томографии в комплексном обследовании больных с аденокортикальным раком // *Проблемы эндокринологии*. 2022. Т. 68, № 4. С. 13–29. EDN: IKEPHE doi: 10.14341/probl12846
12. Шевз А., Селиванова Л.С., Кузнецов Н.С., и др. Иммуногистохимическое исследование экспрессии аберрантных/эутопических рецепторов у пациентов с макронодулярной гиперплазией надпочечников // *Проблемы эндокринологии*. 2020. Т. 66, № 6. С. 4–12. EDN: NHARXB doi: 10.14341/probl12516
13. Kometani M., Yoneda T., Demura M., et al. Genetic and epigenetic analyses of aldosterone-producing adenoma with

- hypercortisolemia // *Steroids*. 2019. Vol. 151. P. e108470. doi: 10.1016/j.steroids.2019.108470
14. Kikuchi E., Yanaihara H., Nakashima J., et al. Urinary steroid profile in adrenocortical tumors // *Biomed Pharmacother*. 2000. Vol. 54 Suppl 1. P. 194s–197s. doi: 10.1016/s0753-3322(00)80043-8
15. Hines J.M., Bancos I., Bancos C., et al. High-resolution, accurate-mass (HRAM) mass spectrometry urine steroid profiling in the diagnosis of adrenal disorders // *Clin Chem*. 2017. Vol. 63, N 12. P. 1824–1835. doi: 10.1373/clinchem.2017.271106
16. Weiss L.M., Medeiros L.J., Vickery A.L. Jr. Pathologic features of prognostic significance in adrenocortical carcinoma // *Am J Surg Pathol*. 1989. Vol. 13, N 3. P. 202–206. doi: 10.1097/00000478-198903000-00004
17. Carsote M. The entity of connshing syndrome: primary aldosteronism with autonomous cortisol secretion // *Diagnostics (Basel)*. 2022. Vol. 12, N 11. P. e2772. doi: 10.3390/diagnostics12112772
18. Gao H., Li L., Tian H. Two cases of aldosterone and cortisol producing adenoma with different histopathological features: a case report // *Medicine (Baltimore)*. 2022. Vol. 101, N 32. P. e30008. doi: 10.1097/MD.00000000000030008
19. Murakami M., Rhayem Y., Kunzke T., et al. In situ metabolomics of aldosterone-producing adenomas // *JCI Insight*. 2019. Vol. 4, N 17. P. e130356. doi: 10.1172/jci.insight.130356

REFERENCES

1. Arlt W, Lang K, Sitch AJ, et al. Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism. *JCI Insight*. 2017;2(8):e93136. doi: 10.1172/jci.insight.93136
2. Miller WL, Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev*. 2011;32(1):81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013
3. Demidova TYu, Titova VV. Difficulties in diagnosing primary hyperaldosteronism. *FOCUS Endocrinology*. 2023;4(2):59–68. EDN: ZIIQBY doi: 10.15829/2713-0177-2023-12
4. Wu VC, Chang CH, Wang CY, et al. Risk of fracture in primary aldosteronism: a population-based cohort study. *J Bone Miner Res*. 2017;32(4):743–752. doi: 10.1002/jbmr.3033
5. Morelli V, Eller-Vainicher C, Salcuni AS, et al. Risk of new vertebral fractures in patients with adrenal incidentaloma with and without subclinical hypercortisolism: a multicenter longitudinal study. *J Bone Miner Res*. 2011;26(8):1816–1821. doi: 10.1002/jbmr.398
6. Di Dalmazi G, Vicennati V, Rinaldi E, et al. Progressively increased patterns of subclinical cortisol hypersecretion in adrenal incidentalomas differently predict major metabolic and cardiovascular outcomes: a large cross-sectional study. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(4):669–677. doi: 10.1530/EJE-11-1039
7. Wu VC, Chueh SJ, Chen L, et al. Risk of newonset diabetes mellitus in primary aldosteronism: a population study over 5 years. *J Hypertens*. 2017;35(8):1698–1708. doi: 10.1097/HJH.0000000000001361
8. Yukina MYu, Nuralieva NF, Beltsevich DG, et al. Macronodular bilateral adrenal hyperplasia: the pathogenesis and genetic aspects. *Consilium Medicum*. 2016;18(1):88–93. EDN: VWALAF doi: 10.26442/2075-1753_2016.1.88-93
9. Fallo F, Castellano I, Gomez-Sanchez CE, et al. Histopathological and genetic characterization of aldosterone-producing adenomas with concurrent subclinical cortisol hypersecretion: a case series. *Endocrine*. 2017;58(3):503–512. doi: 10.1007/s12020-017-1295-4
10. Mete O, Erickson LA, Juhlin CC, et al. Overview of the 2022 WHO classification of adrenal cortical tumors. *Endocr Pathol*. 2022;33(1):155–196. doi: 10.1007/s12022-022-09710-8
11. Rusakov VF, Shcherbakov IE, Chinchuk IK, et al. Diagnostic value of CT in examination of patients with adrenal cancer. *Problems of Endocrinology*. 2022;68(4):13–29. EDN: IKEPHE doi: 10.14341/probl12846
12. Chevais A, Selivanova LS, Kuznetsov NS, et al. Immunohistochemical study on the expression/hyperexpression of aberrant/eutopic receptors in patients with bilateral macronodular adrenal hyperplasia. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(6):4–12. EDN: NHARXB doi: 10.14341/probl12516
13. Kometani M, Yoneda T, Demura M, et al. Genetic and epigenetic analyses of aldosterone-producing adenoma with hypercortisolemia. *Steroids*. 2019;151:e108470. doi: 10.1016/j.steroids.2019.108470
14. Kikuchi E, Yanaihara H, Nakashima J, et al. Urinary steroid profile in adrenocortical tumors. *Biomed Pharmacother*. 2000;54 Suppl 1:194s–197s. doi: 10.1016/s0753-3322(00)80043-8
15. Hines JM, Bancos I, Bancos C, et al. High-resolution, accurate-mass (HRAM) mass spectrometry urine steroid profiling in the diagnosis of adrenal disorders. *Clin Chem*. 2017;63(12):1824–1835. doi: 10.1373/clinchem.2017.271106
16. Weiss LM, Medeiros LJ, Vickery AL Jr. Pathologic features of prognostic significance in adrenocortical carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1989;13(3):202–206. doi: 10.1097/00000478-198903000-00004
17. Carsote M. The entity of connshing syndrome: primary aldosteronism with autonomous cortisol secretion. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(11):e2772. doi: 10.3390/diagnostics12112772
18. Gao H, Li L, Tian H. Two cases of aldosterone and cortisol producing adenoma with different histopathological features: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101(32):e30008. doi: 10.1097/MD.00000000000030008
19. Murakami M, Rhayem Y, Kunzke T, et al. In situ metabolomics of aldosterone-producing adenomas. *JCI Insight*. 2019;4(17):e130356. doi: 10.1172/jci.insight.130356

ОБ АВТОРАХ

*** Жанна Владимировна Пальцман;**

адрес: Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41;
ORCID: 0009-0005-6683-5494;
eLibrary SPIN: 4552-5998;
e-mail: zhannapaltsman@yandex.ru

Сергей Борисович Шустов, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0002-9075-8274;
eLibrary SPIN: 5237-2036;
e-mail: Sergei.Shustov@szgmu.ru

Наталья Владимировна Ворохобина, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0002-9574-105X;
eLibrary SPIN: 4062-6409;
e-mail: natvorokh@mail

Валентина Викторовна Калугина, канд. мед. наук;

ORCID: 0000-0002-2812-6911;
eLibrary SPIN: 3996-7284;
e-mail: kaluginavav@gmail.com

Людмила Иосифовна Великанова, д-р биол. наук, профессор;

ORCID: 0000-0002-9352-4035;
eLibrary SPIN: 5586-4851;
e-mail: velikanova46@gmail.com

Алла Васильевна Кузнецова, канд. мед. наук, доцент;

ORCID: 0000-0003-4990-5946;
e-mail: all-kuznetsova@yandex.ru

Равиля Камильевна Галахова, канд. мед. наук, доцент;

ORCID: 0000-0003-3599-3199;
eLibrary SPIN: 1865-2310;
e-mail: rgalakhova@gmail.com

AUTHORS INFO

*** Zhanna V. Paltsman, MD;**

address: 41 Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russia;
ORCID: 0009-0005-6683-5494;
eLibrary SPIN: 4552-5998;
e-mail: zhannapaltsman@yandex.ru

Sergey B. Shustov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0002-9075-8274;
eLibrary SPIN: 5237-2036;
e-mail: Sergei.Shustov@szgmu.ru

Natalia V. Vorokhobina, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0002-9574-105X;
eLibrary SPIN: 4062-6409;
e-mail: natvorokh@mail

Valentina V. Kalugina, MD, Cand. Sci. (Medicine);

ORCID: 0000-0002-2812-6911;
eLibrary SPIN: 3996-7284;
e-mail: kaluginavav@gmail.com

Ludmila I. Velikanova, MD, Dr. Sci. (Biology), Professor;

ORCID: 0000-0002-9352-4035;
eLibrary SPIN: 5586-4851;
e-mail: velikanova46@gmail.com

Alla V. Kuzntsova, MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor;

ORCID: 0000-0003-4990-5946;
e-mail: all-kuznetsova@yandex.ru

Ravilya K. Galakhova, MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor;

ORCID: 0000-0003-3599-3199;
eLibrary SPIN: 1865-2310;
e-mail: rgalakhova@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author