

Sanja Ognjanović¹, Milan Petakov¹, Tatjana Isailović¹,
Jadranka Antić¹, Valentina Elezović¹, Bojana Popović¹,
Ivan Paunović¹, Ivan Stojanović², Sveta Tatić³, Milorad
Borožanović², Djuro Macut¹, Tamara Bogavac¹, Ivana Božić¹,
Dusan Ilić¹, Emilija Manojlović Gacić³, Svetozar Damjanović¹

ACTH NEZAVISNA MAKRONODULARNA ADRENALNA HIPERPLAZIJA – AIMAH

Sažetak: Bilateralna ACTH nezavisna makronodularna adrenalna hiperplazija je izuzetno retka, i čini manje od 2% svih slučajeva endogenog Cushing-ovog sindroma (CS). AIMAH se često prezentuje incidentalomima i subkliničkim hiperkorticizmom. Bolest je inicijalno smatrana sporadičnom, ali nedavna ispitivanja ukazuju na genetsku osnovu u većini slučajeva. Rezultati istraživanja sprovedenih u poslednje dve decenije ukazuju na različite molekularne mehanizme uključene u patofiziologiju AIMAH, upućujući da heterogene grupe bolesti mogu imati zajedničku prezentaciju. U nedavnoj studiji identifikovana je germinativna mutacija *armadillo repeat containing 5 (ARMC5)* gena kod velikog broja ispitivanih osoba sa sporadičnom i familijarnom formom AIMAH. Somatska *second hit* mutacija ARMC5 je identifikovana u adrenalnom makronodulu, ukazujući da ARMC5 gen ima funkciju tumor supresorskog gena. S obzirom da su ćelije relativno insuficijentne u steroidogenezi, neophodna je značajna progresija u veličini nodusa da bi nastao klinički manifestan hiperkorticizam. Prikazali smo slučaj mlade pacijentkinje sa incidentalno otkrivenom unilateralnom adrenalnom hiperplazijom, subkliničkim CS i germinalnom ARMC5 mutacijom.

Ključne reči: ACTH nezavisna makronodularna adrenalna hiperplazija, Cushingov sindrom, ARMC5 gen, intraadrenalni ACTH

Abstrakt: ACTH independent macronodular adrenal hyperplasia (AIMAH) is a rare cause of Cushing's syndrome (CS), accounting for less than 2% of all endogenous CS cases; however it is more frequently identified incidentally with subclinical cortisol secretion. AIMAH was thought to be sporadic but recent data has shown that there is likely a genetic component in the majority of cases. Over the last two decades,

¹ Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, KCS, Beograd

² Institut za KVB Dedinje, Beograd

³ Institut za patologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

different studies support that multiple molecular mechanisms may be involved in pathogenesis of AIMAH, suggesting that it may be a heterogeneous group of diseases that have a common presentation. Recently, germline mutation in armadillo repeat containing 5 (ARMC5) gene, have been found in many apparently sporadic and familial cases of AIMAH and are thought to be responsible for the disorder. Somatic second hit mutations of ARMC5 were present in adrenal tumors, suggesting ARMC5 functions as a tumor suppressor gene. As these nodules inefficiently produce cortisol, large nodules are required to produce a clinical syndrome. We present the case of young women with incidentally discovered unilateral adrenal hyperplasia, subclinical CS and germline mutation of ARMC5.

Prikaz slučaja

Pacijentkinja V.T, 38 god, hospitalizovana radi ispitivanja incidentaloma desnog nadbubrega. Pacijentkinja ima hipertenziju od 32. godine, bez terapije (TA 140–160/90–100 mmHg), do 35. godine kada se javljaju simptomi i znaci srčane insuficijencije. Dijagnostikovana dilatativna kardiomiopatija (LK 5.8/5.0 cm, globalno hipokontraktilna, EF 25–29%, MR3+ u povećanu LPK). Koronarografija je bila uredna. Tokom 2011. god. na UZ abdomena uočena hipoehogena promena 15mm desnog nadbubrega. Sledi prva hospitalizacija juna 2012. god. Objektivno centripetalno gojazna (BMI 38.6 kg/m², OS 109 cm, OK 117 cm), buffalo hump, bez strija i modrica. Eupnoična, normalan disajni šum, bez vizinga i pukota, srčana radnja tahikardična 110/min, tonovi tiši, sistolni šum nad iktusom 2/6. TA 150/100 mmHg, jetra i slezina se ne palpiraju, ekstremiteti bez edema. PA: majka DM, angina pectoris. MSCT abdomena opisuje nodularno uvećanje 11x12mm na medijalnom krusu desne nadbubrežne žlezde, dok je leva nadbubrežna žlezda uredna. Rezultati hormonskih ispitivanja ukazuju na ACTH nezavisan Cushingov sy. (suprimovan ACTH 11.6 ng/l, gubitak diurnalnog ritma kortizola 430.7.. 215.0 nmol/l, izostanak supresije u dex screening testu 261.4 nmol/l, DEX1 249nmol/l i DEX2 286 nmol/l. Isključen kateholaminski ekscres i hiperandrogenizam. Eutiroidna, negativna organ specifična antitela. Na statinu hol 5.33 HDL 1.15, LDL 3.26. Tg 2.03 mmol/l, glc 4.9 mmol/l, OGTT bez poremećaja glikoregulacije. Januara 2013. operisana, rađena anuloplastika mitralne valvule zbog insuficijencije. Postoperativno kratko febrilna, nakon čega dolazi do pojave značajnog perikardnog izliva (1100ml hemoragične tečnosti) i reoperacije radi drenaže i revizije. Septembra 2013. g. hormonski retestirana, rezultati potvrđuju prethodne (ACTH 13ng/l, kortizol 569..180, dex screening 230, DEXI 140, DEX II 182nmol/l). Kontrolni CT septembra 2013. opisuje u medijalnom krusu desnog nadbubrega kao i interkruralno dve nodularne promene 11x14x10mm i 13x10x9mm, dok je leva nadbubrežna žlezda uredne morfologije. NMR selarne regije pokazuje hipofizu bez fokalnih lezija uz lako dekstroponiran stalk. Maja 2014.

god. učinjena desna adrenalektomija (transdorzalna lumbotomija). PH nalaz: desni nadbubreg promera 12g. Vide se dva delimično ograničena nodusa 10mm i 5mm u kori sa predominacijom svetlih ćelija zone fascikulate. Hyperplasa nodularis corticis gl. suprarenalis. Postoperativno supstituisana kratkotrajno hidrokortizonom. Dva meseca postoperativno retestirana: suprimovan ACTH 10.1ng/l, kortizol 8h 483nmol/l, adekvatna supresija u dex screening testu 25.0 nmol/l, DEX I 52.1, DEX II 33.6nmol/l. Postoperativno uzeta krv za genetski screening i nalaz pokazuje germinalnu nonsens mutaciju u ARMC5 genu (heterozigot Gln228X).

Diskusija

Hiperkorticizam primarno adrenalnog porekla uzrok je Cushingovog sy. (CS) u 10 do 20% slučajeva. Bilateralna makronodularna adrenalna hiperplazija je izuzetno retka, čineći manje od 2% svih slučajeva endogenog CS. Smatra se da je hipersekrecija kortizola uzrokovana autonomnom adrenalnom produkcijom, nezavisnom od pituitarnog ACTH (niske serumske vrednosti ACTH), zbog čega je bolest nazvana ACTH nezavisnom makronodularnom adrenalnom hiperplazijom (AIMAH). Makro odnosno mikronodularna hiperplazija definisana je u zavisnosti od dijametra nodusa (*cut off* 1 cm). Internodularni korteks može biti izmenjen u smislu hiperplazije ili atrofije, što je verovatno uzrokovano lokalnim dejstvom parakrinih, autokrinih ili genetskih faktora.

Patogeneza AIMAH nije razjašnjena. Kortikotropin je glavni stimulatorni faktor za steroidogenezu i rast adrenalnih nodusa, što u slučaju hronične sekrecije u ACTH zavisnom CS može rezultovati sekundarnom adrenokortikalnom hiperplazijom, adrenalnom autonomnom sekrecijom i eventualno supresijom ACTH sinteze, što diferencijalnu dijagnozu čini kompleksnom. Pretpostavlja se da druga hronična stimulacija, različita od ACTH, preko drugih receptora ili preko efekta na postreceptorskom nishodnom signalnom putu ima uticaja u patogenezi nodularne adrenokortikalne hiperplazije i hipersekrecije kortizola.

Ispitivanja sprovedena poslednjih godina značajno su unapredila dosadašnja saznanja o genetici i patofiziologiji AIMAH, koja je inicijalno smatrana sporadičnom bolesti. Prepoznato je nekoliko autozomno dominantnih familijarnih formi u kojima su identifikovane germinativne mutacije gena uključenih u steroidogenezu u zahvaćenim adrenalnim nodulima. To su MEN1 sy. (*menin gen*), familijarna adenomatozna polipoza (inaktivirajuća mutacija u APC genu), hereditarni leiomiomatosa i RCC sy. (gen za fumarat hidratazu), u McCune-Albright sy. (aktivirajuća mutacija MCR2 gena, GNAS1 mutacija). Takođe je identifikovana inaktivirajuća germinativna mutacija u genu za enzim fosfodiesterazu 11A (*PDE11A*) (1). U pojedinim slučajevima steroidogeneza u AIMAH može biti regulisana hormonima i peptidima koji aktiviraju aberantno, ektopično ili ektoično eksprimirane G-protein zavisne receptore u adrenokortikalnom

tkivu, kao što su ektopični receptori za glukozo zavisni insulinotropni peptid (GIP) ili eutopično eksprimirani receptori za vazopresin, kateholamine, LH/HCG, serotonin, angiotensin II, leptin, β receptor, IL 1, PGE1 ili TSH (2).

Nedavno su Assié i sar. identifikovali germinativnu inaktivirajuću mutaciju armadillo repeat containing 5 (*ARMC5*) gena, lokalizovanog na 16p11.2, kod 55% od ukupno 33 pacijenata sa AIMAH (3). Somatska *second hit* mutacija *ARMC5* identifikovana je u adrenalnom makronodulu, ukazujući da *ARMC5* gen ima funkciju tumor supresorskog gena. U ispitivanim makronodulima uočene su različite somatske *ARMC5* mutacije, dok je u internodularnoj difuznoj hiperplaziji detektovana samo germinativna mutacija. Funkcija *ARMC5* je nepoznata. Kodira protein koji sadrži armadillo repeat domene, ukazujući na važnu funkciju u međusobnoj interakciji proteina. U *in vitro* studiji je pokazano da *ARMC5* indukuje apoptozu H295R ćelija adrenokortikalnog karcinoma. Takođe je ispitivana uloga inaktivacije *ARMC5* na steroidogenezu. *ARMC5* inaktivacija u H295R ćelijskoj liniji redukuje nivo mRNA gena koji kodira adrenalni TF-SF1 i MC2R, i redukuje nivo mRNA gena koji kodiraju enzime steroidogeneze CYP17A1 (17 α -hidroxilaza) i CYP21A2 (21hidroxilaza). Suprotno, *ARMC5* inaktivacija nema efekat na nivo mRNA gena koji kodira TF-DAX-1. To rezultuje redukovanom sintezom kortizola. Dakle, inaktivacija *ARMC5* dovodi do smanjene ekspresije receptora za kortikotropin, enzima steroidogeneze i sinteze kortizola. Ovakav nalaz je u saglasnosti sa prethodnim saznanjima o AIMAH, gde je svaka ćelija relativno insuficijentna u steroidogenezi, te je neophodan značajan porast u veličini nadbubrega da bi nastao klinički manifestan hiperkortizam. Smatra se da su ove *second hit* mutacije neophodne za nastanak i progresiju makronodula i hipersekreciju glukokortikoida (1). *ARMC5* nije povezan sa cAMP signalnim putem, koji je uključen u većini do sada identifikovanih mehanizama nastanka kortizol sekretujućih tumora ili hiperplazija (mutacija *MC2R*, *GNAS*, *PRKARIA*, *PDE11A*, ili *PDE8B*). *ARMC5* inaktivacija može biti povezana sa određenim tipom ekspresije aberantnog receptora. Kod pojedinih nosilaca *ARMC5* mutacije nađen je aberantni β receptor i posturalni odgovor kortizola, kao i odgovor kortizola na agonist 5HT-R4. Međutim, ni kod jednog pacijenta sa ektopičnim GIP receptorom nije nađena *ARMC5* mutacija (3).

AIMAH je, češće nego što se mislilo, genetski determinisana. U nekoliko studija tokom 2014. god. *ARMC5* germinalne mutacije potvrđene su kod naizgled sporadičnih i familijarnih formi bolesti. Alencar i sar. su kod 54% (6/11) prvostepenih rođaka 7 pacijenata sa naizgled sporadičnim CS identifikovali iste germinativne *ARMC5* mutacije. Pet od njih je imalo bar jedan nodus na CT skenu, sa hipersekrecijom kortizola u tri slučaja. Jedan pacijent (76 god.), nosilac germinalne mutacije, imao je normalnu CT morfologiju nadbubrega, bez hormonskog poremećaja. Pretpostavka je da on nije imao *second hit* *ARMC5* mutaciju, što je rezultovalo inkompletnom kliničkom penetracijom (4). Studija Fautz i sar. je pokazala da je određeni tip *ARMC5* mutacije povezan sa klinički manifestnim CS (kod 7/7 nosilaca te mutacije – 100%) kod kojih su više vrednosti ponoćnog kortizola, slobodnog kortizola i urinarnih 17-OH-kortiko-

steroida u odnosu na drugu izoformu sa blažim kliničkim tokom (5). Gagliardi i sar. su potvrdili da je ARMC5 mutacija čest uzrok AIMAH. Identifikovali su je kod 4 od 5 porodica, pri čemu su kod 2 porodice identifikovali novu mutaciju, što ukazuje na alelsku heterogenost. Opisana je udruženost sa drugim tumorima (primarni hiperparatiroidizam, primarni aldosteronizam, akromegalia, meningeom) (6).

Nedavna studija Louiset i sar. pokazala je kompleksnu autokrinu/parakrinu regulaciju sekrecije kortizola kao posledicu ekspresije proopiomelanokortina, prohormon konvertaze-1 (konverzija u kortikotropin) i ACTH u ćelijama hiperplastičnog tkiva svih ispitivanih uzoraka, a perfuzione studije pokazuju u reseciranim nodusima pulsatilnu sinhronu sekreciju kortikotropina i kortizola. Takođe je nađena korelacija između bazalnog plazma kortizola i histološkog ACTH skora i ekspresije MC2R u hiperplastičnom tkivu. Sekrecija ovog ektopičnog ACTH nije regulisana klasičnim regulatorima pituitarnog ACTH (CRH, dexamethason, mifepriston), što ukazuje da nema feedback mehanizma između kortizola i produkcije ACTH u adrenalnom hiperplastičnom tkivu. Međutim, adrenalne ACTH produkujuće ćelije ekspimiraju aberantne receptore (5-HT4, 5-HT7, LH-R/hCG, GIP-R), čija aktivacija prirodnim ligandima istovremeno stimuliše sekreciju i kortizola i ACTH koji potom, autokrinim i parakrinim mehanizmom, preko MC2R stimuliše produkciju kortizola u adrenokortikalnim ćelijama (7). Pokazano je da je ekspresija MC2R mRNA značajno niža u eksplantima hiperplastičnih nego normalnih adrenalnih žlezda, i pozitivno korelira sa ekspresijom POMC mRNA, pokazujući da ACTH stimuliše ekspresiju sopstvenog receptora. IHH pokazuje heterogenu distribuciju MC2R u uzorcima, najveću u prostoru oko kortikotropin pozitivnih ćelija. Interesantno, ACTH pozitivne ćelije takođe ekspimiraju MC2R, omogućavajući autokrinu regulaciju sopstvene aktivnosti. Iako bi lokalna ekspresija ACTH trebalo da indukuje povećanu ekspresiju mRNA enzima steroidogeneze, rezultati pokazuju da je njihova ekspresija u hiperplaziji slična ekspresiji u normalnim nadbubrezima, i nije nađena korelacija između POMC i enzima steroidogeneze. Ovo najverovatnije reflektuje abnormalnu diferencijaciju ćelija i heterogenu ekspresiju enzima steroidogeneze u subpopulacijama ćelija hiperplastičnih nadbubrega. Ova heterogenost ćelijskog fenotipa može biti rezultat izvesnog stepena *gonadal-like* diferencijacije subpopulacije adrenokortikalnih ćelija (7). Kortikotropin je detektovan u svim uzorcima BMAH svih 30 pacijenata, od kojih su dva pacijenta imala familijarnu formu (germinativna mutacija PDE11A), a ostalih 28 sporadičnu formu. To ukazuje da abnormalna ekspresija ACTH od pojedinih adrenokortikalnih ćelija može predstavljati sekundarni patofiziološki proces koji je zajednički za različite molekularne defekte i u sporadičnim i familijarnim BMAH. Saznanja o parakrinoj ulozi intraadrenalnog ACTH u sekreciji kortizola, dovela su u pitanje adekvatnost dosadašnje terminologije AIMAH (nezavisne od pituitarnog ACTH), te bi bolest trebalo nazvati primarna bilateralna makronodularna adrenalna hiperplazija (PBMAH).

Klinička ekspresija AIMAH je spora. Najčešće se prezentuje bilateralnim incidentalomima i supkliničkim hiperkorticizmom (oko 10% bilateralnih incidentaloma)

koji se razvija godinama, tako da se klinički Cushing dijagnostikuje u 5–6. deceniji sa podjednakom distribucijom među polovima. Iako ovi pacijenti nemaju tipična stigmata manifestnog CS, kao efekat kontinuirane sekrecije kortizola može nastati gojaznost, hipertenzija, intolerancija glukoze ili DM, dislipidemija i osteoporoza. Za sada, jedina terapijska opcija je bilateralna adrenalektomija sa postoperativnom steroidnom supstitucijom. Unilateralna adrenalektomija se savetuje za dominantno uvećan unilateralni nadbubreg, sa bliskim praćenjem rezidualnog nadbubrega morfološki i funkcionalno. Oba nadbubrega su obično teža od 60 g. AIMAH karakterišu svetle ćelije, bogate lipidima, koje prave nizove gnezdu sličnih struktura, i kompaktne ćelije, siromašne lipidima, koje formiraju gnezda ili ostrvcima slične strukture. Internodularno može postojati hiperplazija ili atrofija (1).

Prikazana je mlada pacijentkinja sa germinalnom ARMC5 mutacijom i AIMAH, kod koje je doneta odluka o unilateralnoj adrenalektomiji, odnosno o hirurškom rešavanju hiperkorticizma zbog značajnog kardiološkog komorbiditeta. Iako je kardiomiopatija okarakterisana kao postmiokarditisna, reverzibilna, ne može se zanemariti ni kardiometabolički uticaj hiperkorticizma. AIMAH je, češće nego što se mislilo, genetski determinisana i genetsko testiranje pacijenata i njihovih srodnika omogućiće ranu dijagnozu i terapiju.

Literatura

1. Stratakis AC, Boikos AS. Genetics of adrenal tumors associated with Cushing's syndrome: a new classification for bilateral adrenocortical hyperplasias. *nature clinical practice, Endocrinology & metabolism*, 2007; 11: 748–757
2. Maria Candida Barisson Villares Frago, Guilherme Asmar Alencar, Antonio Marcondes Lerario, et al. Genetics of primary macronodular adrenal hyperplasia. *Journal of Endocrinology*, 2015: 224, R31–R43.
3. Assie G, Libe R, Espiard S, et al. ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 2013; 369: 2105–2114.
4. Fauz FR, Zilbermint M, Lodish MB, et al. Macronodular hyperplasia due to mutations in an Armadillo repeat containing 5 (ARMC5) Gene: a clinical and genetic investigation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 June 99: E1113–9.
5. Alencar GA, Lerario AM, Nishi MY, et al. ARMC5 mutations are a frequent cause of primary macro nodular adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Aug; 99: E1501–9.
6. Gagliardi L, Schreiber AW, Hahn CN, et al. ARMC5 mutations are common in familial bilateral macro nodular adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: E1784–92.
7. Louiset, E., Duparc, C., Young, J., et al. Intraadrenal corticotrophin in bilateral macro nodular hyperplasia. *N Engl J Med* 2013; 369: 2115–2125.