

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Ljiljana V. Marina

**UTICAJ LUTEINIZIRAJUĆEG HORMONA NA
SEKRECIJU STEROIDA KORE NADBUBREGA KOD
OSOBA SA SLUČAJNO OTKRIVENIM TUMORIMA
NADBUBREGA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Ljiljana V. Marina

**THE EFFECT OF LUTEINIZING HORMONE ON
SECRETION OF ADRENAL CORTEX STEROID
HORMONES IN PATIENTS WITH ADRENAL
INCIDENTALOMAS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor

Prof. dr Svetlana Vujović

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma
Klinički centar Srbije, Beograd
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije

1. Akademik prof. dr Dragan Micić

Srpska akademija nauka i umetnosti

2. VNS dr Miomira Ivović

Klinika za endokrinologiju
Klinički centar Srbije, Beograd
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

3. Prof. dr Milan Petronijević

Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije
Univerzitet odbrane u Beogradu

Datum odbrane: 2018. god.

Zahvaljujem se

Prof. dr Svetlani Vujović, svom mentoru i učitelju, čije su mi poverenje i toplina bili stalno ohrabrenje i čije su mi naučna vizija i istraživačka posvećenost bile uzor i nadahnuće i podrška tokom svih faza izrade ove doktorske disertacije

Akademiku prof. dr Draganu Miciću koji mi je ukazao podršku i razumevanje neophodno za izradu ovog rada.

Asist. dr Miomiri Ivović, svom učitelju i prijatelju, na bezrezervnoj i nesebičnoj podršci, sugestijama i pomoći u svim fazama izrade ovog rada.

Prof. dr Aleksandri Kendereški, za ukazanu bezrezervnu podršku tokom izrade ovog rada.

Asist. dr Milini Tančić-Gajić, dr Zorani Arizanović i dr Dragani Raković za pomoć, prijateljstvo i podršku tokom istraživanja.

Asist. dr Jeleni Milin Lazović na stručnoj podršci u statističkoj obradi podataka.

VMS Dragani Mitrović, na nesvakidašnjoj posvećenosti, stručnosti, preciznosti i ljudskosti u radu sa pacijentima, te prikupljanju analiza i iskrenom prijateljstvu.

Med Sestri Milini Pavlović-Mrdaković na stručnosti i vedrini koja je pacijentima olakšala vreme provedeno u Klinici a meni izradu ovog istraživanja.

Dr Srđanu Pandureviću i dr Antoanu Stefan Šojatu na nesebičnoj pomoći i podršci kada je to bilo najpotrebnije.

Dr Zvezdani Jemuović i dr Danki Jeremić na pomoći i iskrenoj podršci.

Asist. dr Zorani Penezić, svom učitelju i prijatelju, koja mi je utkala temelje endokrinološke i naučno istraživačke misli.

Kolektivu Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije.

Ovaj rad posvećujem svojoj porodici

UTICAJ LUTEINIZIRAJUĆEG HORMONA NA SEKRECIJU STEROIDA KORE NADBUBREGA KOD OSOBA SA SLUČAJNO OKTRIVENIM TUMORIMA NADBUBREGA

Sažetak

Dokazano je da bolesnici sa adrenalnim incidentalomima (AI) imaju visoku prevalenciju insulinske rezistencije (IR) kao i to da je nivo IR u direktnoj vezi sa veličinom adrenalnog tumora. Osim toga, sekretorni tumori nadbubrega osetljivi na LH su literaturno dobro dokumentovani. Cilj ove studije bio je da ispita uticaj LH na sekreciju steroida kore nadbubrega. U tom smislu ispitali smo povezanost nivoa LH sa steroidima kore nadbubrega – kortizolom, aldosteronom i dehidroepiandrosteron sulfatom (DHEAS); povezanost LH sa parametrima osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg; povezanost LH sa kortizolom nakon prekonoćnog deksametazonskog skrining testa (1mg DST). Takođe, želeli smo da ispitamo i povezanost LH i veličine tumora sa IR, kao i odgovor kortizola nakon intramuskularne primene humanog horionskog gonadotropina (hCG). Ova opservaciona, slučaj – kontrola studija sprovedena je u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije. Ukupnu grupu ispitanica činilo je 106 žena u menopauzi: 75 bolesnica sa AI [27 sa nefunkcijskim AI (NAI) i 48 sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola ((M)ASK)] i 31 žena kao zdrava kontrola (ZK) uparena prema starosti, indeksu telesne mase, LH i trajanju menopauze. Za procenu IR koristili smo homeostatski model (HOMA-IR), a kod 14 bolesnica je jutro nakon 1mg DST-a i intramuskularne administracije 10.000i.j. hCG-a određivan kortizol na pola sata počevši od 08h zaključno sa 180. minutom.

Postojala je pozitivna značajna korelacija između LH i HOMA-IR u celoj AI grupi ($r=0.230$; $p=0.047$) i u podgrupi sa (M)ASK ($r=0.353$; $p=0.017$), ali ne i u podgrupi sa NAI ($r=-0.097$, $p=0.623$). Povezanost veličine tumora sa HOMA-IR bila je značajna u celoj AI grupi ($r=0.341$; $p=0.003$) kao i u obe podgrupe: NAI ($p=0.018$, $r=0.445$) i (M)ASK ($p=0.012$, $r=0.362$). Nakon prilagođavanja prema godinama, ITM i veličini tumora i LH i HOMA-IR su bili značajni prediktori HOMA-IR ($r^2=0.196$, $p=0.004$). Nije bilo značajne povezanosti između LH i HOMA-IR kod žena u zdravoj kontroli.

Postojala je pozitivna korelacija između LH i 1mg DST kortizola u celoj AI grupi ($r=0.196$; $p=0.092$), koja je bila značajna kod bolesnika sa (M)ASK ($r=0.342$; $p=0.019$), ali ne i u podgrupi sa NAI ($r=0.151$; $p=0.444$). Postojala je značajna pozitivna korelacija između veličine tumora i 1mg DST kortizola u celoj AI grupi

($r=0.568$; $p<0.001$) i u podgrupi sa (M)ASK ($r=0.439$, $p=0.002$), ali ne i u podgrupi sa NAI ($r=-0.076$, $p=0.706$). Nije bilo statistički značajne povezanosti između LH i aldosterona ili LH i DHEAS.

Od 14 ispitanica ukupno 11 je imalo odgovor kortizola na hCG, 5 sa NAI i 6 sa AI i (M)ASK. Maksimalni odgovor u grupi sa NAI bio je 74%, a u grupi sa (M)ASK 186% u odnosu na 1mg DST kortizol. Prosečan odgovor ispitanica sa NAI bio je 44%, a kod ispitanica sa (M)ASK 98%, u odnosu na 1mg DST kortizol.

Rezultati naše studije ukazuju na to da LH utiče na sekreciju kortizola kod menopauzalnih žena sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola. Takođe, značajna povezanost LH i veličine tumora sa HOMA-IR i 1mg DST kortizolom kod ovih žena ukazuje na moguće sinergističko dejstvo LH i insulina i njihovu ulogu u adrenalnoj tumorigenezi i steroidogenezi.

Ključne reči: adrenalni incidentalom, insulinska rezisencija, adrenalna steroidogeneza, luteinizirajući hormon, (moguća) autonomna sekrecija kortizola

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Interna medicina - endokrinologija

THE EFFECT OF LUTEINIZING HORMONE ON SECRETION OF ADRENAL CORTEX STEROID HORMONES IN PATIENTS WITH ADRENAL INCIDENTALOMAS

Abstract

The aim of this study was to assess the effects of LH on adrenal cortex steroidogenesis in patients with AI. To do so we investigated the associations between LH and adrenal cortex steroids – cortisol, aldosterone and dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS); the association of LH and parameters of hypothalamus-pituitary-adrenal axes; the association of LH and cortisol after the 1 mg overnight dexamethasone test (1 mg DST). We also investigated an association between LH and adrenal tumour size (ATS) with IR.

This was a case-control study conducted in the Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases in Belgrade, Serbia. The total study group consisted of 106 menopausal women: 75 AI patients [27 with non-functional AI (NAI) and 48 with (possible) autonomous cortisol secretion ((P)ACS)] and 31 age-, BMI-, LH- and menopause duration-matched healthy control (HC) women. To estimate IR, we used homeostasis model assessment (HOMA-IR). The morning after 1mg DST 14 patients received 10.000 IU hCG intramuscularly starting at 08.00AM with cortisol measurements every 30 minutes for 3 hours.

There was a significant positive correlation between LH and HOMA-IR in the whole AI group ($r=0.230$; $p=0.047$) and in patients with (P)ACS ($r=0.353$; $p=0.017$), but not in patients with NAI ($r=-0.097$, $p=0.623$). The correlation of ATS and HOMA-IR was significant in the whole AI group ($r=0.341$; $p=0.003$) and in both NAI ($p=0.018$, $r=0.445$) and (P)ACS ($p=0.012$, $r=0.362$). After adjusting for age and BMI, both LH and ATS proved to be significant predictors of HOMA-IR, ($r^2=0.196$, $p=0.004$). There was no significant correlation between LH and HOMA-IR in HC. There was a positive correlation between LH and 1 mg-DST cortisol in the whole AI group ($r=0.196$; $p=0.092$), which was significant in patients with (P)ACS ($r=0.342$; $p=0.019$), but not in patients with NAI ($r=0.151$; $p=0.444$). There was a significant positive correlation between ATS and 1 mg-DST cortisol in the whole AI group ($r=0.568$; $p<0.001$) and in the (P)ACS subgroup ($r=0.439$, $p=0.002$), but not in patients with NAI ($r=-0.076$, $p=0.706$). There was no significant correlation between levels of LH and aldosterone or DHEAS. Out of 14 patients, 11 patients showed response to hCG with cortisol secretion, 5 with NAI and 6 with (P)ACS. Maximal cortisol response in group with NAI was 74%, and in group with (P)ACS

was 186% compared to cortisol value after 1mg DST. The average cortisol response in group with NAI was 44%, whereas it was 98% in group with (P)ACS, compared to cortisol value after 1mg DST.

The results of our study show that LH influences the secretion of cortisol in menopausal patients with (possible) autonomous cortisol secretion. Also, our study shows that in these patients LH and ATS are in a significant positive correlation with HOMA-IR and 1 mg-DST cortisol, suggesting that not only insulin, but also the interplay between LH and insulin, may be the factor contributing to the adrenal tumourigenesis and steroidogenesis.

Key words: adrenal incidentaloma, insulin resistance, arenal steroidogenesis, luteinizing hormone, (possible) autonomous cortisol secretion

Scientific field: Medicine

Major: Internal medicine - endocrinology

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Istorijat	2
1.2. Anatomija nadbubrežnih žlezda	4
1.3. Incidentalomi nadbubrega.	7
1.3.1. Epidemiološke karakteristike	8
1.3.2. Evaluacija slučajno otkrivenih uvećanja nadbubrega	9
1.3.3. Vizualizacioni fenotip	9
1.3.4. Biopsija	12
1.3.5. Ispitivanje hormonske sekrecije incidentaloma nadbubrega	12
1.3.6. (Moguća) autonomna sekrecija kortizola	13
1.4. Terapijski pristup	14
1.4.1. Posebne okolnosti	15
1.4.1.1. Pacijenti sa bilateralnim adrenalnim incidentalomima	15
1.4.1.2. Adrenalni incidentalomi kod mladih i starijih pacijenata	15
1.4.1.3. Pacijenti sa adrenalnim incidentalomima i ranije dijagnostikovanim ekstra-adrenalnim malignitetima	16
1.5. Slučajno otkriveni tumori nadbubrega i insulinska rezistencija	16
1.6. Tumorigeneza adrenalnih uvećanja	18
1.7. Insulin/IGF1 i nadbubrežna žlezda	18
1.8. LH i nadbubrežna žlezda	21
1.8.1. Uticaj LH na koru nadbubrega	22
1.8.2. Animalni modeli ispitivanja uticaja LH na koru nadbubrega	22
1.8.3. Patološki uticaj LH na koru nadbubrega kod ljudi	24
1.8.3.1. ACTH nezavisni Kušingov sindrom u trudnoći i menopauzi	24
1.8.3.2. Virilišuća bilateralna makronodularna hiperplazija	24
1.8.3.3. Nelsonov sindrom i kongenitalna adrenalna hiperplazija	25
1.8.3.4. Aldosteronom	25
1.8.4. Veza između nadbubrega i jajnika	25
1.9. Veza između LH i insulina	26
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	27

3. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA	29
3.1. Protokol istraživanja	30
3.1.1. Odabir ispitanika	30
3.1.2. Oralni test opterećenja šećerom	31
3.1.3. Ispitivanje hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (HHN) osovine	32
3.1.4. Dinamsko ispitivanje	32
3.1.5. Procena insulinske rezistencije	32
3.2. Merenje biohemijskih i hormonskih parametara	32
3.3. Statistička obrada podataka	33
4. REZULTATI	34
4.1. Generalne karakteristike ispitanica	35
4.2. Podela ispitanica sa AI u odnosu na nivo supresije kortizola u 1mg DST-u	38
4.3. Karakteristike ispitanica sa AI u odnosu na unilateralnost odnosno bilateralnost uvećanja	40
4.4. Karakteristike parametara hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovine ispitanica	42
4.5. Karakteristike polnih hormona ispitanica	45
4.6. Karakteristike parametara OGTT-a	46
4.7. Ispitivanje povezanosti LH sa osnovnim karakteristikama ispitanica	48
4.8. Ispitivanje povezanosti HOMA-IR sa osnovnim karakteristikama ispitanica	50
4.8.1. Univarijantna i multivarijantna regresiona analiza sa HOMA-IR kao zavisnom varijablom	52
4.8.2. Multivarijantna regresiona analiza	53
4.9. Korelacija 1mg DST kortizola sa osnovnim karakteristikama ispitanica	53
4.10. Korelacija DHEAS sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe	55
4.11. Korelacija aldosterona sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe	57
4.12. Dinamsko ispitivanje	58

1. UVOD

1.1. Istorijat

Prvi zapis tkiva koje odgovara nadbubregu napravio je lekar iz antičke Grčke *Claudius Galen* iz Pergamona (130-201AD) (Winker, 1927). Međutim, Italijan *Bartolomeo Eustachius* (1520-1574) se prema savremenoj medicini smatra prvim koji je zvanično otkrio i opisao nadbubrežne žlezde. *Eustachius* je napravio svoj zapis na bakarnim pločicama 1552. godine a nadbubrežne žlezde je nazvao žlezdama koje leže na bubrezima (*Eustachius*, 1563; *Welbourn*, 1990). *Arcangelo Piccolomini* (1562-1605) je ostao zapamćen po tome što se nije slagao sa Eustahijem i mislio je da nadbubrežne žlezde nisu vredne pažnje, ali je 1587. godine prvi upotrebio izraz "suprarenalne" žlezde (*Piccolomini*, 1568).

Baron *Georges Cuvier* (1769-1832), francuski biolog i zoolog je 1805. godine prvi prepoznao razliku između srži i kore nadbubrega (*Lenard*, 1951). *George Gulliver* (1804-1882) je 1840. godine izneo sugestiju da adrenalne žlezde luče jedinstvenu supstancu u krvotok, koja nesumnjivo ima specijalnu funkciju (*Welbourn*, 1990). Izraze *cortex* (kora) i *medulla* (srž) je prvi uveo 1845. godine nemački anatom i embriolog *Emil Huschke* (1797 – 1858) (*Nagel*, 1836).

Albert von Kölliker (1817-1905), švajcarski anatom i fiziolog je 1852. godine dao prvu kompletnu mikroskopsku diferencijaciju supstance korteksa i medule sa tvrdnjom da su fiziološki i funkcionalno različite (*Kölliker*, 1852). *John Goodsir* (1814-1867) je 1846. godine izneo mišljenje da adrenalne žlezde, timus i štitasta žlezda imaju zajedničko embrionalno poreklo i da stoga mogu da funkcionišu na sličan način (*Lonsdale*, 1868).

Funkcija nadbubrega je bila nepoznata i kontroverzna sve do 1855. godine kada je poznati engleski lekar *Thomas Addison* napisao rad u kome je opisao 11 pacijenata sa destrukcijom obe nadbubrežne žlezde i zaključio da život bez njih nije moguć (*Addison*, 1855).

George Oliver i *Edward Sharpey-Schafer* su 1893. godine pokazali da srž nadbubrega sadrži supstancu koja data intravenozno izaziva vazokonstrikciju sa posledičnim podizanjem arterijskog pritiska i ubrzanjem rada srca. Tu supstancu su imenovali kao "adrenalin" (*Oliver and Schafer*, 1895).

Felix Frankel je prvi 1886. godine opisao na autopsiji kod pacijenta tumor srži nadbubrega feohromocitom (od grčkih reči *phaios*, taman i *chroma*, boja) (*Fränkel*, 1886).

Harvey Cushing (1869-1939) je 1912. godine opisao kliničke osobine hiperkortizolizma, a 1932. godine definisao sindrom koji se karakterisao mišićnom

slabošću, gojaznošću, dijabetesom i adrenalnom hipertenzijom. Od tada sva stanja koja uzrokuju višak glukokortikoidne sekrecije se nazivaju Kušing (Cushing, 1912).

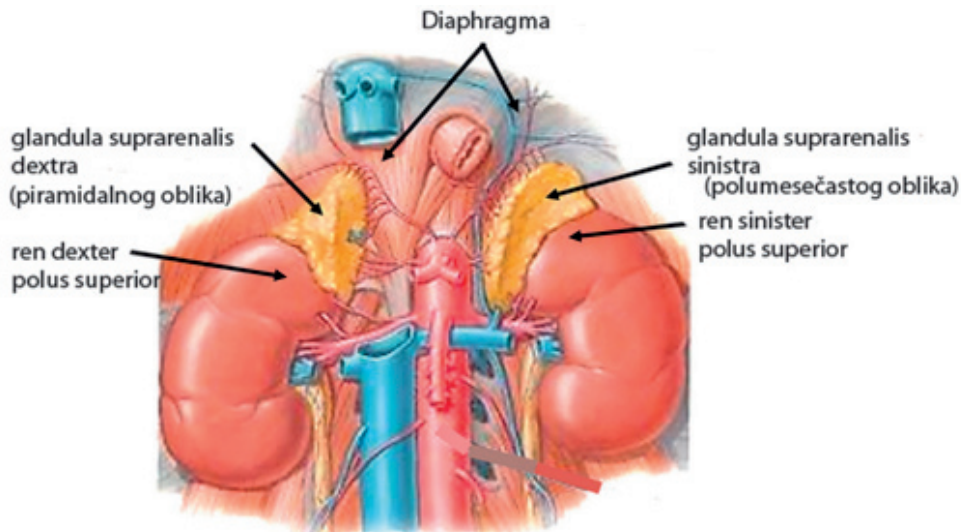
Edward Calvin Kendall, Tadeus Reichstein i Philip Showalter Hench su 1930. godine opisali strukturu, sintezu i biohemijske efekte hormona kore nadbubrega za šta su 1950. godine dobili Nobelovu nagradu (*The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1950*, 2018).

Jerome Conn (1907 - 1994) je 1955. godine opisao primarni aldosteronizam (Conn, 1955).

1.2. Anatomija nadbubrežnih žlezda

Nadbubrežna žlezda je parna žlezda sa unutrašnjom sekrecijom. Žlezde, desna i leva, su zlatno žute boje i spljoštene su od napred put nazad. Širina nadbubrežne žlezde iznosi oko 3cm, visina oko 5cm, debljina oko 1cm a težina oko 5 grama. Leva žlezda je uglavnom veća od desne (Mijac, Draganic and Radonjic, 2008).

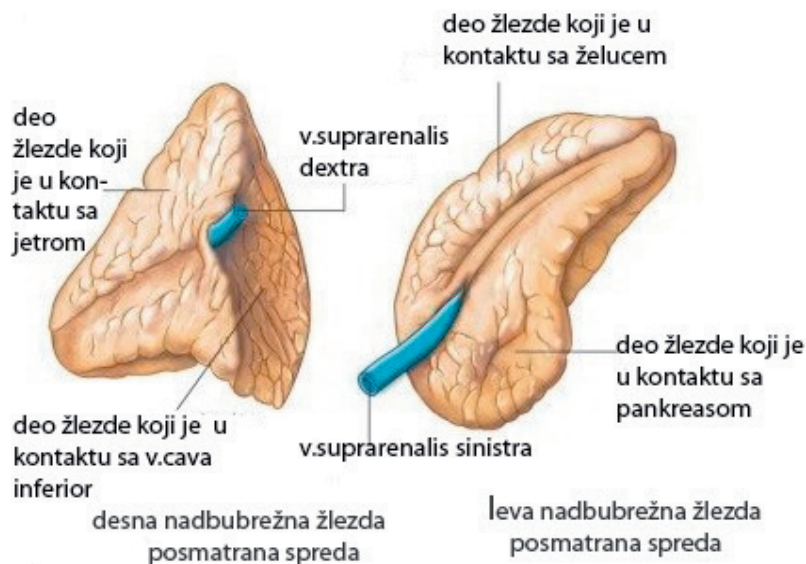
Nadbubrežne žlezde su smeštene u retroperitonealnom prostoru trbuha, između odgovarajućeg gornjeg pola bubrega i kičme. Okružene su vezivnim tkivom, koje sadrži perinefritično masno tkivo i obavijene su zajedno sa odgovarajućim bubregom bubrežnom fascijom, od čije unutrašnje strane se odvaja mala vezivna pregrada, koja razdvaja nadbubreg od bubrega. Preko bubrežne fascije su pričvršćene za *crurae* dijafragme. Oblik nadbubrežnih žlezda nije isti. Desna nadbubrežna žlezda je trouglasta odnosno piramidalnog oblika i široka je a leva je polumesečastog oblika i duguljasta, Slika 1 (Mijac, Draganic and Radonjic, 2008).



Slika 1. Oblik i položaj nadbubrežnih žlezda.

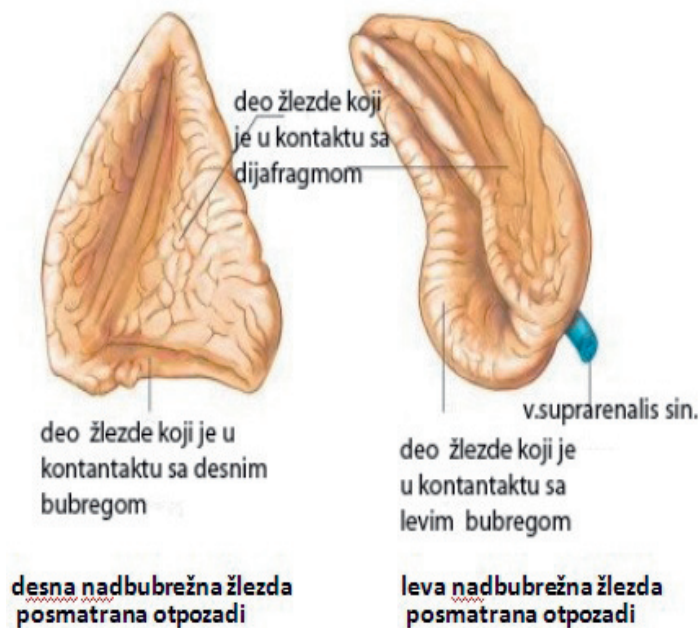
(Preuzeto iz: Netter F, Atlas of Human Anatomy Sixth Edition Copyright © 2014, Saunders, Elsevier Inc)

Svaka žlezda ima prednju stranu (facies anterior), zadnju stranu (facies posterior), bazu (facies renalis), vrh, gornju konveksnu ivicu i medijalnu ravnu ivicu. Na prednjoj strani nadbubrežne žlezde u sredini se nalazi poprečna pukotina nazvana hilum nadbubrežne žlezde, kroz koji izlazi v. suprarenalis.



Slika 2. Odnosi prednjih strana nadbubrežnih žlezda.

(Preuzeto i modifikovano iz: Suzan Standring, Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40ed, Elsevier Churchill Livingstone, 2008)



Slika 3. Odnosi zadnjih strana nadbubrežnih žlezda.

(Preuzeto i modifikovano iz: Suzan Standring, Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40ed, Elsevier Churchill Livingstone, 2008)

Prednja strana desne nadbubrežne žlezde je u kontaktu sa desnim režnjem jetre, na kome ostavlja otisak, te sa dvanaestopalačnim crevom i sa desnim uglom kolona. Prednja strana leve nadbubrežne žlezde je preko *bursae omentalis* u kontaktu sa zadnjim zidom želudca a u donjem delu dodiruje rep pankreasa, Slika 2.

Zadnje strane obe nadbubrežne žlezde naležu na odgovarajući stub dijafragme i preko njih su u kontaktu sa kostodijafragmatičnim špagom plućne maramice. Između stubova dijafragme i njihovih zadnjih strana nalazi se *plexus coeliacus* sa svojim ganglionima i dovodnim granama, Slika 3. Bazom se oslanja na odgovarajući gornji pol bubrega. Vrh je upravljen naviše i unutra, gornja konveksna ivica je u odnosu sa dijafragmom a medijalna ravna ivica je sa desne strane u kontaktu sa donjom šupljom venom, a sa leve strane sa trbušnom aortom (Mijac, Draganic and Radonjic, 2008).

Cela žlezda je obavijena vezivnim omotačem, koji šalje vezivne pregrade u površinski sloj žlezdanog parenhima.

Parenhim nadbubrežne žlezde je izgrađen od dva sasvim različita dela. Na periferiji se nalazi kora – *cortex*, a u sredini srž – *medulla*. Između kore i srži nadbubrežne žlezde postoji samo anatomska, ali ne i direktna funkcionalna veza.

Kora nadbubrežne žlezde čini 90% parenhima i mezodermalnog je porekla dok srž nadbubrežne žlezde čini 10% parenhima i ektodermalnog je porekla.

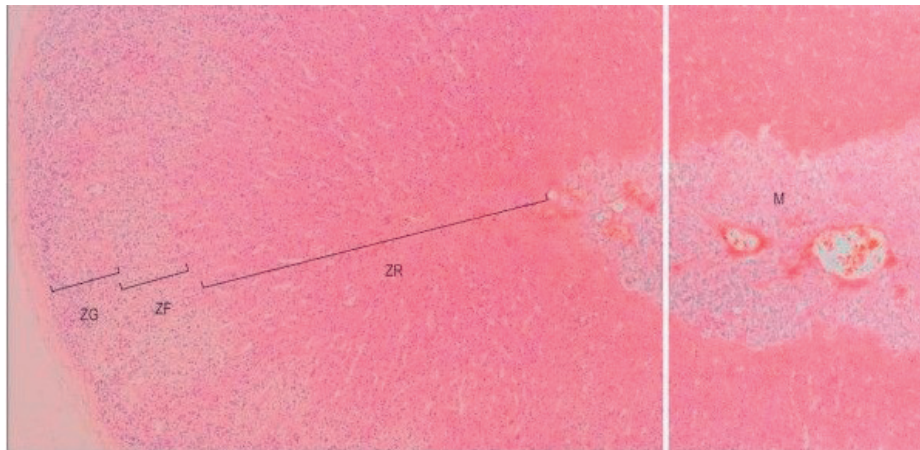
Kora nadbubrežne žlezde je žućkaste boje jer su njene ćelije bogate lipidima. Ćelije kore su raspoređene u tri sloja:

- klupčasti sloj, *zona glomerulosa*, koji leži neposredno ispod vezivnog omotača žlezde,
- snopovni pojas, *zona fasciculata*, srednji sloj i najaktivniji sloj, koji se povećava ili smanjuje u zavisnosti od funkcije same kore, i
- mrežasti sloj, *zona reticularis*, koji je najdublji.

U zoni glomerulozi je dominantna sinteza i sekrecija mineralokortikosteroida (aldosteron), u zoni fascikulati glukokortikosteroida (kortizol), a u zoni retikularis sinteza androgena (dehidroepiandrosteron sulfat).

Srž nadbubrežne žlezde je izgrađena od hromafilnih ćelija, koje se boje hromnim solima i luče kateholamine, Slika 4.

Nadbubrežna žlezda je bogato vaskularizovana. Dobija krv iz gornje, srednje i donje nadbubrežne arterije koje vode poreklo od donje prečažne, trbušne aorte i bubrežne arterije. Vensku krv izvodi samo jedna vena (*v. suprarenalis*) i to sa desne strane u donju šuplju venu a sa leve strane u levu bubrežnu venu.



Slika 4. Poprečni presek nadbubrega: zona glomeruloza (ZG), zona fascikulata (ZF), zona retikularis (ZR), srž - medula (M).

(Preuzeto iz: Suzan Standring, Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40ed, Elsevier Churchill Livingstone, 2008)

Limfni sudovi kore nadbubrežne žlezde prate arterije nadbubrežne žlezde, a limfni sudovi srži prate vene nadbubrežne žlezde. Svi odlaze u lumbalne limfne čvorove odgovarajuće strane.

Nadbubrežna žlezda je inervisana granama koje potiču od plexusa suprarenalisa, koji nastaje od plexusa celijakusa (Mijac, Draganic and Radonjic, 2008).

1.3. Incidentalomi nadbubrega

Incidentalomi nadbubrega su klinički tihi tumori otkriveni slučajno tokom dijagnostičkih procedura ili lečenja a bez prethodne sumnje na bolesti nadbubrega (Groot De, Chrousos and Dungan, 2017). U užem smislu definicija podrazumeva da pre vizualizacije detekcije ovih masa pacijenti ne smeju da imaju znake ili tegobe specifične za adrenalne bolesti, niti prethodno preležane adrenalne bolesti (Groot De,

Chrousos and Dungan, 2017). Sa početkom upotrebe kompjuterizovane tomografije (CT) u vizualizaciji abdomena sedamdesetih godina prošlog veka utvrđeno je da je CT odlična metoda za detekciju promena na nadbubrezima (Groot De, Chrousos and Dungan, 2017). Dalje tehnološko napredovanje i sve veća dostupnost i upotreba i drugih metoda kao što su ultrazvuk, magnetna rezonanca i poziciona emisiona tomografija doveli su do sve češćeg otkrivanja slučajnih, neočekivanih adrenalnih masa (Groot De, Chrousos and Dungan, 2017). Veličina od najmanje 10mm se godinama unazad arbitrarno koristi kao neophodna za definiciju incidentaloma nadbubrega, međutim, sa upotrebom vizualizacionih metoda visoke rezolucije sve više se otkrivaju i manje lezije (Young, 2007; Terzolo *et al.*, 2011).

1.3.1. Epidemiološke karakteristike

Tačna prevalencija i incidencija incidentaloma nadbubrega do sada nije ustanovljena jer nedostaju podaci iz opšte populacije. Dostupni podaci su uglavnom porekla autopsijskih i radioloških studija. Ove studije je relativno teško protumačiti s obzirom na retrospektivni karakter, nedovoljnost kliničkih informacija i različite kriterijume za uključivanje pacijenata (Groot De, Chrousos and Dungan, 2017).

U autopsijskim studijama prevalencija incidentaloma nadbubrega varira u zavisnosti od starosti pacijenata i veličine tumora. Barzon i saradnici su obradili 13 autopsijskih studija sa ukupno 71.206 pacijenata i pokazali da je prosečna prevalencija bila između 2.3% (od 1 do 8.7%) (Barzon *et al.*, 2003). U autopsijskoj studiji Reinharda i saradnika čak 53.7% od 498 konsektivnih obdukcijских nalaza pokazalo je prisustvo pojedinačnog ili multiplih nodusa nadbubrega a 5% prisustvo adenoma. Dijametar nodusa se kretao od 0.3 do 0.8mm, a adenoma od 3.2 do 28mm (Reinhard, Saeger and Schubert, 1996).

U radiološkim studijama pokazano je da je prevalencija između 4.4% i 5% (Bovio *et al.*, 2006; Song, Chaudhry and Mayo-Smith, 2008). Učestalost incidentaloma nadbubrega raste sa starošću krećući se od 0.2% kod mlađe populacije do 6.9% kod pacijenata starijih od 70 godina (Kloos *et al.*, 1995). Češći su kod žena u odnosu na muškarce (Mantero *et al.*, 2000; Bourdeau *et al.*, 2001). Takođe, učestaliji su kod bele rase, gojaznih pacijenata, pacijenata sa šećernom bolešću i kod onih sa hipertenzijom (Barzon *et al.*, 2003). Bilateralni su kod 10-15% sa jednakom distribucijom između leve i desne strane (Angeli *et al.*, 1997).

1.3.2. Evaluacija slučajno otkrivenih uvećanja nadbubrega

Najvažniji zadatak endokrinologa kome je upućen pacijent sa incidentalomom nadbubrega je da dá odgovor na pitanje kakva je priroda uvećanja. Ovi tumori su najčešće dobroćudni ali se kod 2-5% pacijenata dijagnostikuje adrenokortikalni karcinom. Dalje, nadbubrežne žlezde su često mesto metastatskog širenja malignih bolesti, pogotovu pluća, dojki, želudca, bubrega, melanoma i limfoma (Lam and Lo, 2002). Iako incidentalomi nadbubrega prema definiciji ne podrazumevaju metastatske adrenalne mase kod pacijenata sa već poznatim malignim oboljenjima, ovi pacijenti nose visok rizik od metastaza na nadbubrezima, od 45-73% (Belldegrun *et al.*, 1986; Francis *et al.*, 1988; Abecassls *et al.*, 2018), a za mase preko 3cm ovaj rizik raste, 43-100% (Belldegrun *et al.*, 1986; Francis *et al.*, 1988). Nažalost, metastatske promene u nadbubrezima su prediktor kraćeg preživljavanja pacijenata u odnosu na pacijente sa intaktnim nadbubrezima (Hess *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2018). Sa druge strane, izolovane metastaze u nadbubrezima se prema studiji Herrere i saradnika otkrivaju u svega 0.4% slučajeva kao pravi incidentalomi kod asimptomatskih pacijenata kod kojih još uvek nije poznato da imaju maligno oboljenje (Herrera *et al.*, 1991).

1.3.3. Vizualizacioni fenotip

Na osnovu karakteristika snimaka dobijenih kompjuterizovanom tomografijom (CT) ili nuklearnom magnetnom rezonancom (NMR), tzv. vizualizacionog fenotipa uvećanja nadbubrega, moguće je sa velikom verovatnoćom doneti zaključak o histološkoj prirodi tumora (Dunnick, 1990; Young, 2011), Tabela 1.

Tabela 1. Osnovne karakteristike vizuelnog fenotipa benignih uvećanja nadbubrega (Young and Kebebew, 2018)

Osnovne karakteristike vizualizacionog fenotipa benignih uvećanja nadbubrega
1. okrugle, jasno ograničene promene, homogenog denziteta
2. veličina promene <4cm, unilateralnost
3. atenuacija manja od 10HU na CT snimku
4. brzo ispiranje kontrasta (10min nakon ubrizgavanja kontrasta apsolutno ispiranje kontrasta preko 50%) na CT snimku
5. izointenzitet sa jetrom u T1 i T2 sekvencama na NMR
6. dokaz prisustva lipida NMR multivoksel spektroskopijom

Na snimcima dobijenim CT-om priroda uvećanja nadbubrega procenjuje se na osnovu izmerene veličine uvećanja, prekontrastnog stepena atenuacije kao i na osnovu brzine ispiranja kontrasta. Veličina tumora ima visoku prediktivnu vrednost. Angeli i saradnici su pokazali da je preko 90% adrenokortikalnih karcinoma bilo veće od 4cm (Angeli *et al.*, 1997). Takođe, veličina tumora je važna u smislu ranog otkrivanja jer manji adrenokortikalni karcinomi imaju bolju sveukupnu prognozu (Henley *et al.*, 1983). Za procenu atenuacije koriste se tzv Haunsfildove jedinice (HU). Zbog visokog procenta masnoće adenomi imaju nisku atenuaciju. Ostale promene imaju višu ili visoku atenuaciju. Tipične prekontrastne HU vrednosti masnog tkiva su od -20 do -150HU a bubrega od 20 do 150HU. Ako je atenuacija uvećanja nadbubrega ispod 10HU (ima denzitet masti), a uvećanje je homogeno i jasnih granica verovatnoća da je u pitanju benigno uvećanje je gotovo 100%. Međutim, oko 30% adenoma ne sadrži velike količine masti i može biti teško za razlikovanje od ostalih promena nadbubrega (Young and Kebebew, 2018).

Adenome nadbubrega karakteriše brzo ispiranje kontrasta na CT-u, dok ostala uvećanja nadbubrega karakteriše odloženo ispiranje kontrasta (Henley *et al.*, 1983). Deset minuta nakon davanja kontrasta apsolutno ispiranje od preko 50% je 100% senzitivno i specifično za adenome nadbubrega u poređenju sa karcinomima, feohromocitomima i metastazama (Henley *et al.*, 1983; Peña *et al.*, 2000; Szolar *et al.*, 2005).

Vizualizacioni fenotip ne upućuje na sekretornu funkciju uvećanja, ali je u visokoj korelaciji sa histološkim nalazom, te bilo koje sumnjivo uvećanje nadbubrega treba razmotriti za operativno lečenje (Young, 2007).

Kompjuterizovana tomografija ostaje metoda izbora kada je dijagnostika nadbubrega u pitanju ali nuklearna magnetna rezonanca ima prednosti u određenim slučajevima kao što je primena kod dece, trudnica i primena kod pacijenata sa prethodno višestrukom upotrebom CT-a (Fassnacht *et al.*, 2016). Karakteristike benignih tumora su izointenzitet sa jetrom u T1 i T2 sekvencama i dokaz prisustva lipida NMR multivoksel spektroskopijom.

Poziciona emisiona tomografija (PET) sa fluorodeoksiglukozom F18 (FDG) (Groussin *et al.*, 2009) ili 11C metomidatom (Hennings *et al.*, 2009) je metoda koja ima visoku senzitivnost za detekciju malignih bolesti (Young, 2007). Korisna je kod pacijenata sa prethodno dijagnostikovanom malignom bolešću ili kod onih kod kojih je CT snimak nekonkluzivan ili visoko sumnjiv na malignitet (Terzolo *et al.*, 2011).

1.3.4. Biopsija

Biopsija ima ograničenu ulogu u evaluaciji uvećanja nadbubrega. Koristi se jedino ukoliko postoji sumnja da se radi o metastazi maligniteta koji nije porekla nadbubrega, nekom drugom infiltrativnom ili infektivnom procesu. Adrenalna biopsija se ne preporučuje ukoliko postoji velika verovatnoća da je u pitanju adrenokortikalni karcinom, jer nosi rizik od diseminacije bolesti. Jedini izuzetak su inoperabilna uvećanja kada je biopsija neophodna da bi se postavila dijagnoza i započelo onkološko lečenje. Čak i u tim situacijama biopsiju nadbubrega treba da učini iskusni radiolog (Fassnacht *et al.*, 2016).

1.3.5. Ispitivanje hormonske sekrecije incidentaloma nadbubrega

Većina adrenalnih incidentaloma je hormonski tiha, dok je 10-15% hipersekretorno (Mantero *et al.*, 2000).

Prema poslednjim preporukama Evropske mreže za ispitivanje tumora nadbubrega (Fassnacht *et al.*, 2016) svi pacijenti sa AI treba da prođu detaljan klinički pregled i endokrinološko ispitivanje u cilju otkrivanja prisustva kliničkih znakova viška hormona nadbubrega i njihovog određivanja.

Ispitivanje hormonske sekrecije treba da obuhvati (Fassnacht *et al.*, 2016):

1. 1mg prekonocni deksametazonski supresioni test (1mg DST) kod svih pacijenata u cilju isključenja hipersekrecije kortizola
 - test se bazira na peroralnoj primeni 1mg deksametazona u 23h i uzimanjem uzorka krvi u 08.00h sledećeg dana za određivanje kortizola
 - vrednost kortizola ispod 50nmol/l isključuje hiperkorticizam
2. određivanje kateholamina ili metabolita kateholamina u 24h urinu u cilju isključivanja kateholaminskog ekscesa
3. kod pacijenata sa hipertenzijom ili hipokalijemijom određivanje odnosa aldosterona i plazma reninske aktivnosti u cilju isključenja hiperaldosteronizma
4. kod pacijenata sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola a koji prethodno nemaju dijagnostikovan povišen krvni pritisak, šećernu bolest i/ili osteoporozu treba sprovesti skrining na ove bolesti
5. kod pacijenata sa nekonkluzivnim vizuelnim fenotipom i/ili sumnjom na adrenokortikalni karcinom treba odrediti i polne hormone.

1.3.6. (Moguća) autonomna sekrecija kortizola

Vrednost kortizola ispod 50nmol/l u prekonocnom deksametazonskom supresionom testu se smatra vrednošću koja isključuje postojanje autonomne sekrecije kortizola. Sa druge strane, izostanak supresije kortizola uz bazno uredan kortizol i odsustvo kliničke slike hiperkorticizma je stanje koje i dalje veoma zaokuplja pažnju endokrinologa bez i dalje jasnog zaključka uz literaturno različite dijagnostičke kriterijume i definicije. Najčešće korišćeni naziv ovog stanja je subklinički hiperkorticizam ili subklinički Kušingov sindrom. Sumarno, prema dosadašnjim literaturnim kriterijumima, podrazumeva izostanak supresije kortizola u 1mg prekonocnom deksametazonskom supresionom testu - ispod 50nmol/l, 83nmol/l ili 140nmol/l uz još najmanje jedan od sledećih parametara: 1) povišen 24h kortizol u urinu, 2) niskonormalnu ili suprimovanu vrednost ACTH i 3) izostanak dnevnog ritma kortizola, tj. povišen ponoćni kortizol, preko 100nmol/l.

Različite granične vrednosti kortizola u 1mg DST-u (50nmol/l, 83nmol/l ili 140nmol/l) potiču iz potrage za najspecifičnijom i najsenzitivnijom vrednošću. Više vrednosti podižu specifičnost ali snižavaju senzitivnost testa (Morelli, Masserini, *et al.*, 2010).

Od 2016. godine prema preporukama Evropske mreže za proučavanje adrenalnih tumora, termin subklinički Kušingov sindrom ili subklinički hiperkorticizam je napušten kao nedovoljno precizan i predložen je termin (*moguća*) autonomna sekrecija kortizola, koji se od tada koristi i u ovom istraživanju (Fassnacht *et al.*, 2016) i to na sledeći način:

- Za pacijente sa nivoom kortizola između 51 i 138nmol/l se smatra da imaju moguću autonomnu sekreciju kortizola (MASK)
- Za pacijente sa nivoom kortizola preko 138nmol/l se smatra da imaju autonomnu sekreciju kortizola. Prisustvo komorbiditeta koji mogu biti posledica hiperkortizolemije kao što su povišen krvni pritisak, šećerna bolest i/ili osteoporoza kao i starost pacijenta utiču na dalju odluku o lečenju – konzervativni pristup ili hirurško lečenje.

1.4. Terapijski pristup

Kod pacijenata sa unilateralnim AI i potvrđenim hormonskim ekscesom lečenje je hirurško. Kod pacijenata sa nefunkcijskim, asimptomatskim, unilateralnim AI sa benignim vizuelnim fenotipom hirurško lečenje se ne savetuje. Laparoskopska adrenalektomija je metoda izbora kod pacijenata sa unilateralnim AI i suspektnim vizuelnim fenotipom veličine ispod 6cm, a bez znakova lokalne invazije. Klasična adrenalektomija je metoda izbora kod unilateralnih AI sa suspektnim vizuelnim fenotipom i znacima lokalne invazije. Kod pacijenata koji nisu suprimovali kortizol ispod 50nmol/l u 1mg DST-u neophodno je sprovesti postoperativnu supstituciju hidrokortizonom prema preporukama za supstituciju glukokortikoidima pacijenata sa adrenalnom insuficijencijom.

Klinički tok adrenalnih incidentaloma zavisi od prirode uvećanja. Adrenokortikalni karcinomi pokazuju brz rast, preko 2cm godišnje, sa veoma slabom prognozom i petogodišnjim preživljavanjem od 47% (Fassnacht and Allolio, 2009). Klinički tok i preživljavanje pacijenata sa metastazama u nadbubrežima zavisi od porekla primarnog tumora kao i stadijuma bolesti (Grumbach *et al.*, 2003).

U smislu hormonske hipersekrecije, učestalost transformacije nefunkcijskog adrenalnog incidentaloma u tumor koji sekretuje kateholamine ili aldosteron je ispod 0.3% (Barzon *et al.*, 2003). Najčešća hormonska transformacija je pojava autonomne sekrecije kortizola kod ranije nefunkcijskog adrenalnog incidentaloma sa učestalošću do 10% (Terzolo *et al.*, 2005). Rizik od ovakve pojave je veći kod tumora koji su veći od 3 cm i najčešće se beleži u prve dve godine praćenja (Libè *et al.*, 2002).

Benigni tumori retko pokazuju porast preko 1cm godišnje. Porast se najčešće dešava u prve tri godine od otkrivanja (Bernini *et al.*, 2005; Bülow *et al.*, 2006), a kod oko 4% se beleži smanjenje ili potpuni nestanak tumorske mase (Barzon *et al.*, 2003; Bernini *et al.*, 2005). Rizik od transformacije benignog u maligni tumor je izuzetno nizak <1/1000 (Barzon *et al.*, 2003; Cawood *et al.*, 2009).

Kod pacijenata sa jasnim benignim vizuelnim fenotipom a ispod 4cm u dijametri nije potrebno dalje sprovoditi praćenje vizualizacionim metodama. Kod pacijenata čiji vizuelni fenotip ne ispunjava sve neophodne kriterijume a koji nisu želeli da se operišu, potrebno je ponoviti snimak CT-om bez kontrasta ili magnetnom rezonancom 6-12 meseci nakon inicijalne evaluacije u cilju isključivanja značajnog porasta. Značajnim porastom se smatra porast od najmanje 20% uz uvećanje maksimalnog dijametra od najmanje 5mm, kada je neophodno operativno lečenje. Ukoliko je porast ispod ovih kriterijuma savetuje se dalje vizualizaciono praćenje nakon 6-12 meseci (Fassnacht *et al.*, 2016).

Pacijente sa nefunkcijskim AI nije potrebno ponovo endokrinološki testirati osim ukoliko se ne zabeleži pogoršanje nekog od komorbiditeta (hipertenzija, šećerna bolest, osteoporoza) (Fassnacht *et al.*, 2016).

Pacijente sa autonomnom sekrecijom kortizola a bez kliničkih znakova hiperkorticizma potrebno je jednom godišnje retestirati u smislu evaluacije komorbiditeta koji su potencijalno posledica viška kortizola. U odnosu na ishod ove evaluacije treba razmotriti adrenalektomiju kao metodu definitivnog izlečenja (Fassnacht *et al.*, 2016).

1.4.1. Posebne okolnosti

1.4.1.1. Pacijenti sa bilateralnim adrenalnim incidentalomima

Za pacijente sa bilateralnim adrenalnim incidentalomima važe ista pravila u smislu evaluacije vizuelnog fenotipa, evaluacije hormonske sekrecije i komorbiditeta, indikacije za operativno lečenje i praćenje kao i kod pacijenata sa unilateralnim adrenalnim incidentalomima (Fassnacht *et al.*, 2016).

U dodatku:

- Kod svih pacijenata sa bilateralnim uvećanjima neophodno je odrediti 17-hidroksiprogesteron (17-OH progesteron) u cilju isključenja postojanja kongenitalne adrenalne hiperplazije (Fassnacht *et al.*, 2016)
- Kada postoji sumnja na infiltrativnu bolest ili hemoragiju potrebno je isključiti postojanje insuficijencije nadbubrega (Fassnacht *et al.*, 2016).
- Kod pacijenata sa ACTH nezavisnom autonomnom sekrecijom kortizola bez kliničkih znakova hiperkorticizma bilateralna adrenalektomija se ne savetuje. Kod određenih pacijenata može se razmatrati unilateralna adrenalektomija većeg tumora uzevši u obzir starost pacijenta, stepen viška kortizola, opšte stanje, komorbiditete kao i želju pacijenta (Fassnacht *et al.*, 2016).

1.4.1.2. Adrenalni incidentalomi kod mladih i starijih pacijenata

Uvećanja nadbubrega kod dece, adolescenata, trudnica i mladih od 40 godina potrebno je sprovesti urgentnu evaluaciju zbog povećanog rizika od maligniteta. Takođe, kod ovih populacija savetuje se primena magnetne rezonance umesto CT-a (Fassnacht *et al.*, 2016).

1.4.1.3. Pacijenti sa adrenalnim incidentalomima i ranije dijagnostikovanim ekstra-adrenalnim malignitetima

Kod pacijenata sa adrenalnim incidentalomima i ranije dijagnostikovanim ekstra-adrenalnim malignitetima savetuje se (Fassnacht *et al.*, 2016):

- određivanje kateholamina u urinu u cilju isključenja kateholaminskog ekscesa čak iako je jasno da je u pitanju metastatska promena. Dalje ispitivanje treba sprovesti u odnosu na individualne karakteristike pacijenta.
- ako postoji visoka sumnja na metastatske promene FDG-PET/CT je vizualizaciona metoda izbora
- ukoliko uvećanja nadbubrega na CT-u imaju jasne benigne karakteristike nije potrebno dalje vizualizaciono praćenje
- kod pacijenata sa nejasnim vizuelnim fenotipom potrebno je sprovesti kontrolnu vizualizaciju, FDG-PET/CT, biopsiju ili hirurško lečenje.
- Biopsija se savetuje u sledećim situacijama
 - uvećanje nadbubrega je nefunkcijsko
 - vizuelni fenotip ne ide u prilog benigne promene
 - lečenje zavisi od patohistološkog nalaza promene
- kod pacijenata sa velikim bilateralnim uvećanjima neophodno je ispitati adrenalnu funkciju u smislu isključenja adrenalne insuficijencije (Fassnacht *et al.*, 2016)

1.5. Slučajno otkriveni tumori nadbubrega i insulinska rezistencija

Dobro je poznato da hiperkorticismizam dovodi do značajnih metaboličkih poremećaja, počevši od insulinske rezistencije do loše regulisane šećerne bolesti (Di Dalmazi *et al.*, 2015). Kortizol dovodi do oštećenja metabolizma glukoze putem direktnih i indirektnih efekata.

Direktni efekti su (Altieri *et al.*, 2016):

- stimulacija glukoneogeneze u jetri
- sniženje insulinske senzitivnosti preko oštećenja funkcionisanja signalnih puteva insulinskog receptora u perifernim tkivima
- facilitacija dejstva drugih hormona koji učestvuju u metabolizmu glukoze kao što je to glukagon čije dejstvo dovodi do povećane proizvodnje glukoze

Indirektni efekti su (Seckl *et al.*, 2004; Altieri *et al.*, 2016):

- stimulacija lipolize i proteinolize
- disfunkcija beta ćelija pankreasa što dovodi do oštećenja sekrecije insulina i aktivacije serin kinaze te posledično smanjenja aktivnosti signalnih puteva insulina
- povećano nakupljanje visceralnih masnoća.

Subklinički hiperkorticizam takođe dovodi do oštećenja metabolizma glukoze (Di Dalmazi *et al.*, 2015). Ivović i saradnici su pokazali da pacijenti sa subkliničkim hiperkorticizmom imaju veću prevalenciju oštećene tolerancije na glukozu i veću površinu ispod krive (*Engl. Area under the curve – AUC*) za glukozu nakon OGTT-a u odnosu na pacijente sa nefunkcijskim incidentalomima i zdravu kontrolu (Ivović *et al.*, 2013). Osim toga, pacijenti sa subkliničkim hiperkorticizmom imaju značajno više vrednosti glukoze, triglicerida nakon OGTT-a i značajno sniženu osetljivost na insulin u poređenju sa pacijentima sa nefunkcijskim AI (Terzolo *et al.*, 2002).

Sa druge strane, Terzolo i saradnici su primetili da je kod pacijenata sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima a koji su operisani zbog veličine ili porasta u tumoru došlo do poboljšanja kontrola povišenog krvnog pritiska kao i glukoze našte (Terzolo *et al.*, 2002). U tom smislu, kada su određivani indeksi insulinske rezistencije, odnosno indeksi insulinske senzitivnosti, nije bilo statistički značajne razlike u njihovom nivou između pacijenata sa subkliničkim hiperkorticizmom i nefunkcijskih AI (Ivović *et al.*, 2013). Tome u prilog idu i rezultati studije Morelli i saradnicikoji nisu našli razliku u nivou krvnog pritiska, šećerne bolesti, dislipidemije, abdominalne gojaznosti ili metaboličkog sindroma između ove dve grupe pacijenata (Morelli, Masserini, *et al.*, 2010).

Osim metaboličkih poremećaja, kod pacijenata sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima zabeležen je veći odnos intima/media u karotidnim krvnim sudovima (Yener *et al.*, 2009), te oštećena vazodilatacija (Yener *et al.*, 2011) kao i hipertrofija leve komore (Ermetici *et al.*, 2008) u poređenju sa zdravom kontrolom.

Do sada nije u potpunosti jasno zašto pacijenti sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima imaju veću insulinsku rezistenciju od zdrave populacije s obzirom na to da su uvećanja hormonski neaktivna. Morelli i saradnici su pokazali da individualna osetljivost glukokortikoidnog receptora na kortizol takođe igra veliku ulogu u određivanju predispozicije pojedinca za ispoljavanje metaboličkih efekata kortizola (Morelli, Donadio, *et al.*, 2010). Štaviše, Morelli i saradnici su ponudili objašnjenje da polimorfizam gena za glukokortikoidni receptor kod pacijenata sa AI

ima znatnu ulogu u ispoljavanju kliničke slike obično viđene kod klinički ispoljenog hiperkorticizma (Morelli, Donadio, *et al.*, 2010).

I pored toga dugoročne kliničke implikacije svega navedenog nisu poznate. Do sada još uvek nisu objavljene studije sa dugoročnim praćenjem pacijenata sa subkliničkim hiperkorticizmom, odnosno (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizolai/ili nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima na temu njihovog sveukupnog morbiditeta i mortaliteta.

1.6. Tumorigeneza adrenalnih uvećanja

Koru nadbubrega čine tri koncentrična sloja. Svaki ima svoja specifična morfološka i funkcionalna svojstva. Adrenokortikotropni hormon (ACTH) je glavni regulator zone fascikulate i stimuliše sekreciju kortizola, dok je glavni regulator zone glomeruloze angiotenzin II. Zona retikularis je takođe predominantno pod uticajem ACTH i sintetiše dehidroepiandrosteron (DHEA) i dehidroepiandrosteron sulfat (DHEAS). Osim što regulišu i izazivaju sintezu i oslobađanje steroida ova dva hormona povećavaju ekspresiju velikog broja gena koji su uključeni u proces steroidogeneze (Liddle, 1981).

I pored toga što su ACTH i AngII glavni regulatori adrenalne funkcije svi steroidi nadbubrega su pod uticajem i kompleksnih interakcija nekoliko različitih sistemskih i parakrinih faktora. Ovi faktori pripadaju imunom sistemu, ćelijama vaskularnog zida a mogu biti i lokalni faktori rastjenja i/ili neuropeptidi koje sekretuje srž nadbubrega ili inervacioni sistem (Vinson, Hinson and Tóth, 1994; Ehrhart-Bornstein *et al.*, 1998; Holgert, Dagerlind and Hökfelt, 1998).

1.7. Insulin/IGF1 i nadbubrežna žlezda

Kada izostane uobičajeni odgovor tkiva na periferiji na normalnu koncentraciju insulina u krvi to stanje predstavlja insulinsku rezistenciju. Tada dolazi do kompenzatorne hipersekrecije insulina u cilju održavanja homeostaze glukoze i posledično do hiperinsulinemije. Ovo je jedan od procesa koji vodi u bolesti kao što su gojaznost i šećerna bolest (Caro *et al.*, 1987).

Veza između insulina i nastanka tumora prvobitno je pokazana u *in vivo* studijama koje su pokazale da je davanje insulina dovelo do nastanka tumora dojki (Heuson and Legros, 1972).

Mehanizmi kojima se mogu objasniti mitogeni efekti insulina su sledeći :

- u uslovima hronične hiperinsulinemije dolazi do vezivanja insulina za IGF-1R što dovodi do njegove aktivacije i posledično potentne mitogene aktivnosti (Baxter, Bryson and Turtle, 1981)
- hiperinsulinemija dovodi do ushodne regulacije receptora faktora rastenja u jetri što dovodi do indirektno stimulacije povećane produkcije IGF-1 (Leung *et al.*, 2000)
- insulin dovodi do povećanja nivoa bioraspoloživog IGF-1 putem direktnog ili indirektnog snižavanja IGF-BP1 i IGF-BP2 (Conover *et al.*, 1992)
- u euinsulinemijskim stanjima insulin se vezuje za svoj receptor i stimuliše metaboličke odgovore putem aktivacije PI3K (Ish-Shalom *et al.*, 1995)
- u hiperinsulinemijskim stanjima mitogena dejstva insulina se ostvaruju i na postreceptorskom molekularnom nivou što upućuje na posledičnu aktivaciju i predominaciju MAPK mitogenog puta (Vigneri *et al.*, 2009)

Insulinu slični faktori rastenja (*Engl. Insulin-like growth factors- IGF*) imaju centralnu ulogu u regulaciji diferencijacije bioloških funkcija nadbubrežne žlezde, njenom razvoju i rastu tokom embriogeneze (Ribeiro and Latronico, 2012). IGF-2 je jako eksprimiran u nadbubrežnim žlezdama fetusa i doprinosi ACTH-indukovanom porastu nadbubrega (Voutilainen and Miller, 1988).

In vitro i *in vivo* studije su pokazale da u adultnom nadbubregu IGF indukuju steroidogenezu putem ushodne regulacije glavnih steroidogenih enzima i ACTH receptora (Penhoat, Ouali and Viard, 1996; Fottner, Engelhardt and Weber, 1998; L'Allemand *et al.*, 1998). IGF1 i IGF2 indukuju sintezu androgena putem interakcije sa IGF-1 receptorom i IGF vezujućim proteinima (*Engl. IGF binding proteins – IGF-BP*) (Weber *et al.*, 1995). Ovaj efekat reguliše ACTH koji moduliše lokalnu produkciju IGF-BPa (Fottner, Engelhardt and Weber, 1998).

Pojačana ekspresija IGF-2 je najčešći molekularni događaj u adrenokortikalnom karcinomu i prisutan je u oko 90% slučajeva (Almeida *et al.*, 2008; Giordano *et al.*, 2009; Ribeiro and Latronico, 2012; Ronchi *et al.*, 2013). Međutim, istraživanja na molekularnom nivou su pokazala da IGF-2 sam po sebi nije dovoljan za nastanak tumora već je faktor koji doprinosi progresiji porasta tumora a za nastanak tumora je neophodno prisustvo drugih faktora (Drelon, Berthon and Val, 2013). Što se tiče IGF1 ispitivanja su pokazala da nema razlike u njegovoj ekspresiji kod adenoma u odnosu na adrenokortikalne karcinome (Kamio *et al.*, 1991).

Reincke i saradnici su prvi ukazali na vezu između hiperinsulinemije i porasta adrenalnih tumora. Ne samo da su pokazali da su bolesnici sa adrenalnim incidentalomom insulin rezistentni na osnovu OGTT-a već su i pokazali da *in vitro* insulin direktno stimuliše proliferaciju NCI-H259R ćelija u tačno određenom vremenski i dozno zavisnom intervalu (Reincke *et al.*, 1996).

U prilog ovoj hipotezi ide i studija Muscogiuri *et al.* koji su pokazali da je u ispitivanoj grupi NAI veličina tumora bila direktno srazmerna nivou insulinske rezistencije (Muscogiuri *et al.*, 2011).

Jedno od zanimljivih objašnjenja na temu hiperinsulinemije i NAI je studija u kojoj je zabeležena pozitivna korelacija između nivoa insulinske senzitivnosti i nivoa adrenalne osetljivosti na ACTH. Autori su izneli hipotezu da insulin blokira dejstvo ACTH na adrenalnom nivou i dovodi do rezistencije na ACTH čime bi potencijalno došlo do kompenzatornog porasta ACTH te prekomerne stimulacije adrenalnog korteksa i posledično nastanka adenoma (Fernández-Real *et al.*, 1998).

Sa kliničke strane, Hiroi i saradnici su retrospektivno detektovali povećanu prevalenciju adrenokortikalnih tumora kod pacijenata sa šećernom bolešću tip 2 u odnosu na zdravu populaciju (Hiroi *et al.*, 2010). Osim toga pokazano je i da gojazni pacijenti sa šećernom bolešću mogu imati uvećane nadbubrege (Godoy-Matos *et al.*, 2006).

Svi ovi dokazi jasno upućuju na vezu između insulina, nastanka i progresije adrenalnih tumora ali Altieri i saradnici zaključuju da ipak nema dovoljnih dokaza koji bi uputili na direktan kauzalan odnos između hiperinsulinemije i adrenalnih tumora (Altieri *et al.*, 2016). U prilog ovoj hipotezi ide i studija Muscogiuri *et al.* koji su pokazali da je u ispitivanoj grupi NAI veličina tumora bila direktno srazmerna nivou insulinske rezistencije.

Jedno od zanimljivih objašnjenja na temu hiperinsulinemije i NAI je studija u kojoj je zabeležena pozitivna korelacija između nivoa insulinske senzitivnosti i nivoa adrenalne osetljivosti na ACTH. Autori su izneli hipotezu da insulin blokira dejstvo ACTH na adrenalnom nivou i dovodi do rezistencije na ACTH čime bi potencijalno došlo do kompenzatornog porasta ACTH te prekomerne stimulacije adrenalnog korteksa i posledično nastanka adenoma.

Sa kliničke strane, Hiroi i saradnici su retrospektivno detektovali povećanu prevalenciju adrenokortikalnih tumora kod pacijenata sa šećernom bolešću tip 2 u odnosu na zdravu populaciju. Osim toga pokazano je i da gojazni pacijenti sa šećernom bolešću mogu imati uvećane nadbubrege.

Svi ovi dokazi jasno upućuju na vezu između insulina, nastanka i progresije adrenalnih tumora ali Altieri i saradnici zaključuju da ipak nema dovoljnih dokaza koji bi uputili na direktan kauzalan odnos između hiperinsulinemije i adrenalnih tumora.

1.8. LH i nadbubrežna žlezda

Gonadotropne ćelije prednjeg režnja hipofize sekretuju luteinizirajući hormon (LH). Dominantna uloga LH je regulacija ovulacije. LH ima nekoliko izoformi čiji se poluživot i bioraspoloživost razlikuju tokom menstrualnog ciklusa. Kod mlađih žena u reproduktivnom periodu LH ima kratak poluživot, a najduži je u menopauzi (Choi and Smitz, 2014).

Humani horionski gonadotropin (hCG) u trudnoći predominantno sekretuju ćelije sinciciotrofoblasta. Njegova osnovna uloga je stimulacija lučenja progesterona od strane žutog tela u ranoj trudnoći (Cole, 2010). Sa druge strane hCG sekretuje i prednji režaj hipofize, koji je prisutan i kod muškaraca i kod žena (Choi and Smitz, 2014). Tokom menstrualnog ciklusa sekreciju LH prati sekrecija hCG, ali je poluživot hCG-a kraći od poluživota LH. Jedna trećina LH aktivnosti tokom folikularne faze menstrualnog ciklusa potiče od hCG-a (Cole, 2010). LH i hCG ostvaruju svoja dejstva putem zajedničkog receptora LH/hCG. Tačna funkcija hipofiznog hCG-a i dalje nije poznata, ali s obzirom na to da se sekretuje u isto vreme kada i LH tokom menstrualnog ciklusa kao i to da svoju funkciju ostvaruje putem zajedničkog receptora pretpostavlja se da je njegova funkcija vrlo slična sa LH: stimulacija sazrevanja folikula, indukcija ovulacije, stimulacija sekrecije progesterona tokom lutealne faze (Cole, 2010).

Iako su gonade primarno ciljno tkivo dejstva ova dva hormona, mogućnost da LH i hCG utiču i na nadbubreg pojavila se na osnovu nekoliko kliničkih stanja:

- DHEAS je povišen kod žena sa neovulatornim ciklusima sa ili bez PCOS-a uz normalan ACTH a povišen LH što je pobudio sumnju da LH i hCG zapravo stimulišu sekreciju DHEAS iz nadbubrega (Chang *et al.*, 1983; Hofmann *et al.*, 1984)
- tokom adrenarhe dolazi do povećane sekrecije adrenalnih androgena uz uredne vrednosti ACTH i kortizola a davanjem GnRH analoga tokom adrenarhe dovodi do supresije sekrecije androgena (Ferre, Lawrence and Jaffe, 1978; Chang *et al.*, 1983; Liu *et al.*, 1983; Hofmann *et al.*, 1984))
- u ranoj trudnoći, kada nivo hCG naglo raste, dolazi do skoka kortizola i DHEAS-a, dok nivo ACTH ostaje isti a β HCG stimuliše sekreciju DHEAS fetusa intrauterino (Fotherby, 1984).

Ovakva klinička zapažanja dovela su do potrage za LH/hCG receptorima u kori humanog nadbubrega kod odraslih. Receptori su identifikovani u celokupnoj zoni

retikularis kao i dubljim slojevima zone fascikulate, a ćelije sa LH/hCG receptorima su bile pozitivne na steroidne enzime ukazujući na to da su receptori zapravo i funkcionalni i da mogu učestvovati u sekreciji DHEAS (Pabon *et al.*, 1996).

1.8.1. Uticaj LH na koru nadbubrega

Prvi eksperimentalni i literaturni dokazi o uticaju gonadektomije na nastanak adrenokortikalnih tumora nastali su između 1940. i 1970. godine prošlog veka (Bittner and Huseby, 1951; Holmes, 1961; Donovan and ter Haar, 1977; Bielinska *et al.*, 2003).

1.8.2. Animalni modeli ispitivanja uticaja LH na koru nadbubrega

U pokušaju da utvrde genetsku osnovu nastanka adrenalnih tumora nakon gonadektomije Bernichtein isaradnici su 2008. godine analizirali gensku povezanost tumorigenih DBA/2Jsoja miševa (Bernichtein *et al.*, 2008). Pokazalo se da se nakon gonadektomije kod DBA/2J miševa, subkapsularno u korteksu nadbubrega pojavljuju male, tzv. A ćelije. Sa vremenom, A ćelije, čija funkcija inače nije poznata, ali se pretpostavlja da nisu steroidogene (Bielinska *et al.*, 2003), proliferišu i šire se u zoni fascikulati. Nakon toga, unutar polja A ćelija pojavljuju se tzv. B ćelije koje su steroidne ćelije u kojima se nalaze lipidi a ove ćelije reaguju na LH. Time nastaje jasan neoplastičan obrazac ostrvaca koji se sastoje od A i B ćelija što dovodi do potpune dezorganizacije unutar zona adrenalnog korteksa (Bernichtein *et al.*, 2008).

Pretpostavlja se da tumorigeneza koja se javlja nakon gonadektomije predstavlja metaplaziju subkapsularnih adrenokortikalnih stem/progenitorskih ćelija između zone glomeruloze i fascikulate (Kataoka, Ikehara and Hattori, 1996; Mitani *et al.*, 2003) koja se pod uticajem LH, transformiše u ćelije koje liče na stromu gonada. U skladu sa tim, u B ćelijama dolazi do ekspresije nekoliko gena koji su specifični za gonade kao što su Sf1, Gata4, Inha, Lhcgr, Cyp17, Cyp19a1a, Esr1, Amh i Amhr2 (Bielinska *et al.*, 2003, 2005; Bernichtein *et al.*, 2008). Ove neoplastične adrenokortikalne ćelije sekretuju i androgene i estrogene (Bielinska *et al.*, 2003, 2005). Looyenga i saradnici su identifikovali dva tipa ćelija u neoplastičnom segmentu - jedan koji podseća na teka ćelije jajnika i drugi koji podseća na granuloza ćelije (Looyenga and Hammer, 2006). Ove ćelije na svojoj površini nemaju ekspresiju tipičnih adrenokortikalnih

gena (Mc2r, Cyp11b1 ili Cyp21). U tom smislu, pokazalo se da ne samo da se ove ćelije transformišu i podsećaju na gonade već i gube adrenokortikalne karakteristike. Među ćelijama koje su identifikovane u neoplastičnim adrenokortikalnim ćelijama, A ćelije podsećaju na stromalne ćelije menopauzalnog jajnika (Jabara *et al.*, 2003), dok B ćelije podsećaju na folikularne teka ćelije kod pacijenata sa sindromom policističnih jajnika, stanje koje inače karakteriše povišen nivo LH (Kaaijk *et al.*, 2000). Ova transformacija tkiva se može objasniti zajedničkim embrionalnim poreklom nadbubrega i gonada. Međutim, definitivno objašnjenje i dalje ne postoji (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

Postavlja se pitanje šta je to što dovodi do aktivacije ćelijasa ekspresijom LH receptora. U tom smislu Mazzuco i saradnici su ispod kapsule bubrega kod miševa transplantovali genetski modifikovane adrenokortikalne ćelije sa ekspresijom LH/hCG receptora što je dovelo do hiperplazije transplantovanih ćelija i Kušingoidnog fenotipa (Mazzuco *et al.*, 2006). Zaključili su da je povećana ekspresija LH/hCG dovela do neoplazije. Međutim, druge studije su pokazale da je ushodna regulacija LH/hCG receptora nakon gonadektomije nespecifičan proces jer ne dovodi uvek do nastanka tumora (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

Nekoliko studija je ispitivalo različite, genetski modifikovane modele miševa kod kojih je dokazano da njihov hiperproliferativni tumorogeni fenotip mogu da indukuju različita stanja.

Inhibin je hormon sa tumor supresorskom aktivnošću čije dejstvo je, između ostalog, da kontroliše proliferativno dejstvo njegovog biološkog oponenta – aktivina. Sa druge strane, aktivin ima jako apoptotičko dejstvo na koru nadbubrega i sprečavanje nastanka tumorigeneze (Matzuk *et al.*, 1994; Beuschlein *et al.*, 2003; Looyenga and Hammer, 2006). Kod miševa koji imaju genetski programiran nedostatak Inhibina (tzv. Inhibin knockout miševi), ovarijektomija dovodi do nestanka ovarijumske produkcije aktivina i povišenih nivoa LH što uz nedostatak inhibina dovodi do patološkog adrenokortikalnog rasta (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

Nastanak adrenokortikalne hiperplazije i tumora u uslovima povišenog LH, tj. nakon gonadektomije potvrđen je i kod tzv. Inha/Tag miševa koji imaju virusom inaktivisan p53 tumor supresorski gen (Kananen *et al.*, 1997; Rilianawati *et al.*, 1998). Sa druge strane kada su ovi miševi podvrgnuti funkcionalnoj gonadektomiji uz GnRH antagoniste, što je stanje koje karakteriše niži nivo LH, nije došlo do nastanka adrenalnih tumora što je dovelo do zaključka da je za nastanak tumora neophodno prisustvo povišenih nivoa LH (Kananen *et al.*, 1997).

Povećana aktivnost LH/hCG receptora dovodi do aktivacije Gata4 gena (Rahman *et al.*, 2001) koji potom stimuliše ushodnu regulaciju gena koji se inače nalaze u gonadnim somatskim ćelijama kao što su antiMilerov hormon, Star (steroidogeni regulatorni protein), Inha (Inhibin-a), Inhbb (Inhibin-bB), Cyp 17 (17-hidroksilaza/C17-20 liaza) i Cyp 19 (aromataza) (Looyenga and Hammer, 2006). Ova ushodna regulacija neće dovesti do tumorigeneze već predstavlja normalan odgovor kore nadbubrega na hronično povišene nivoe LH (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008). Međutim, u kombinaciji sa genetskom sklonošću (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008), ekspresijom virusnih onkogeno kao što je SV40 Tag (Kananen *et al.*, 1997), odsustvom antiproliferativnog dejstva inhibina (Matzuk *et al.*, 1994), visokim novoima prolaktina ili estrogena (Kero *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2001) doći će do adrenokortikalne hiperplazije ili nastanka tumora.

1.8.3. Patološki uticaj LH na koru nadbubrega kod ljudi

1.8.3.1. ACTH nezavisni Kušingov sindrom u trudnoći i menopauzi

Patološki značaj LH/hCG receptora je potvrđen u ACTH nezavisnom Kušingovom sindromu koji nastaje tokom trudnoće (Lacroix, Hamet and Boutin, 1999; Bugalho *et al.*, 2000; Mircescu *et al.*, 2000; Wy *et al.*, 2002; Feelders *et al.*, 2003; Herman Chui *et al.*, 2009). Kod ovih žena nakon porođaja došlo je do potpunog povlačenja bolesti a sa ulaskom u menopauzu Kušingov sindrom se ponovo javio. Patoanatomski zabeležena je bilateralna hiperplazija nadbubrega ili adrenalni karcinom a tkiva nadbubrega su bila pozitivna na prisustvo LH/hCG receptora. Stimulacija hCG-om dovela je do povećane sekrecije kortizola a primena analoga GnRH dovela je do smanjene sekrecije kortizola.

1.8.3.2. Virilišuća bilateralna makronodularna hiperplazija

Slično se dogodilo i kod pacijentkinje sa veoma retkom virilišućom bilateralnom makronodularnom hiperplazijom, kod koje je na primenu analoga GnRH došlo i do povlačenja simptoma viška androgena (Goodarzi *et al.*, 2003; Werk, Sholiton and Kalejs, 2010).

1.8.3.3. Nelsonov sindrom i kongenitalna adrenalna hiperplazija

Nelsonov sindrom karakteriše porast ACTH zavisnog tumora hipofize koji nastaje nakon bilateralne adrenalektomije a pod stimulacijom visokih nivoa CRH. Ovo retko oboljenje karakteriše i javljanje gonadnih tumora koji se sastoje od hiperplastičnog adrenokortikalnog tkiva a za koje je odgovorna visoka sekrecija ACTH (Assié *et al.*, 2007). Slično se dešava i kod kongenitalne adrenalne hiperplazije (White and Speiser, 2000).

1.8.3.4. Aldosteronom

Treći, retki slučaj LH/hCG uzrokovanog tumora bio je aldosteron sekretujući adrenalni adenom kod kojih je potvrđena i hCG receptorom posredovana aktivacija aldosteron sintaze (CYP11B2) (Saner-Amigh *et al.*, 2006).

1.8.4. Veza između nadbubrega i jajnika

Navedeni klinički slučajevi kao i nalazi animalnih modela upućuju na to da je zajedničko ontogeno poreklo nadbubrega i jajnika veoma verovatno objašnjenje zašto nadubrezi postaju osetljivi na LH/hCG pri izlaganju hronično povišenih nivoa gonadotropina (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

Kora nadbubrega i jajnik nastaju iz istih progenitorskih ćelija urogenitalnog grebena (Morohashi, 1997; Keegan and Hammer, 2002). Ispitivanja genetskog porekla ćelija koje su pozitivne na SF-1 faktor su identifikovale zajedničku ćeliju koja se nalazi u urogenitalnom grebenu, takozvanom adreno-gonadnom primordijumu od koga će se kasnije izdvojiti adrenalni i gonadni primordijum (Morohashi, 1997). Iz gonadnog primordijuma će nastati somatska komponenta gonada, te jajnik ili testis, a iz adrenalnog primordijuma kora nadbubrega, dok će nervne ćelije iz zadnjeg roga gangliona migrirati u adrenalni primordijum i formirati srž nadbubrega. Identifikovan je veliki broj transkripcionih faktora koji učestvuju u ovoj diferencijaciji ali mehanizam po kojem se adrenogenitalnim primordijum razdvaja u nadbubrežni i gonadni primordijum i dalje nije poznat (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

Dalje, nadubrezi i jajnici imaju veoma sličnu regulaciju putem hipotalamus-hipofiza povratne sprege kao i sličnu steroidogenezu (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008). 11b- (CYP11B1) i 21- (CYP21A) hidrosilaza kao i ACTH

receptor (MC2R), su eksprimovani u kori adultnog nadbubrega ali i u testistima fetusa (O'Shaughnessy *et al.*, 2003; Val, Jeays-Ward and Swain, 2006). Sa druge strane CYP19A1A i 17-OH hidrosilaza koje su specifične za adultne gonade su pozitivne u nadbubrezima fetusa (Apaja *et al.*, 2005). Takođe, ekspresija LH/hCG receptora je značajno viša u tkivu fetalnog nego u adultnom nadbubregu (Apaja *et al.*, 2005).

Na osnovu svega izloženog prisustvo LH/hCG receptora u kori nadbubrega je dobro dokumentovano kao i njihov klinički značaj, ali i dalje nije poznato šta dovodi do aktivacije LH/hCG receptora.

Bernichtein i saradnici pretpostavljaju da su ovi receptori neaktivni ili minimalno aktivni sve dok ne dođe do hroničnog porasta nivoa hCGa ili nivoa LH što okida ushodnu regulaciju receptora i aktivacije njihovih signalnih puteva (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008). Međutim, autori ostavljaju otvoreno pitanje ako je zaista hronično povišen nivo LH sve što je potrebno zašto onda svaka žena u menopauzi nema adrenalni tumor (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008)?

1.9. Veza između LH i insulina

Sindrom policističnih jajnika (PCOS) pogađa između 6 i 10% žena reproduktivnog perioda i predstavlja značajan zdravstveni problem s obzirom na to da ove pacijentkinje imaju značajno veću prevalenciju insulinske rezistencije i metaboličkih poremećaja u odnosu na zdravu populaciju (Dunaif *et al.*, 1989; Legro *et al.*, 1999).

Jedna od glavnih karakteristika sindroma policističnih jajnika jeste povišena sekrecija LH (Franks, 1995), a žene sa PCOS koje imaju povišen LH i hiperinsulinemiju imaju povišenu sekreciju adrenalnih androgena (Banaszewska *et al.*, 2003).

Jedna od karakterisika PCOS je i prenaplašen odgovor na ACTH i LH (Lanzone *et al.*, 1992). Međutim, terapija insulinskim senzitizerima, kako kod mršavih tako i kod gojaznih žena, dovodi do umanjenja ovog odgovora (Azziz *et al.*, 2001) što upućuje da je prenaplašen odgovor zapravo u vezi sa insulinskom rezistencijom a ne gonadotropinima ili steroidima jajnika per se. I zaista, pokazalo se da u kulturi adrenalnih ćelija insulin dovodi do povećane bazalne i ACTH-om stimulisane produkcije androgena i povećane ekspresije P450c17 (Kramer, Buster and Andersen, 1990; LAllemand *et al.*, 1996).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ove doktorske disertacije je bio da se ispita da li lutenizirajući hormon (LH) stimuliše sekreciju steroida u tumorima nadbubrega.

3. METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

Ova studija bila je opservaciona, slučaj – kontrola i sprovedena je u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije. Istraživanje je obuhvatilo 492 konsektivna pacijenta sa adrenalnim incidentalomima (AI) koji su primljeni na Odeljenje za gojaznost, reproduktivne i metaboličke poremećaje. Osim pacijenata sa AI istraživanje je obuhvatilo i 31og volontera koji su učestvovali kao zdrava kontrola.

3.1. Protokol istraživanja

Prisustvo adrenalnih tumora je dijagnostikovano i potvrđeno CT-om bez prethodne sumnje na bolesti nadbubrega. Četiri do šest nedelja pre prijema u Kliniku, kod pacijenata koji su prethodno uzimali antihipertenzivnu terapiju isključeni su lekovi koji mogu uticati na ispitivanje osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (beta blokatori, ACE inhibitori, blokatori angiotenzin II receptora, diuretici, metildopa, spironolakton) (Porter R, 2011). Za to vreme pacijenti su koristili lekove iz grupe kalcijumskih antagonista i/ili alfa blokatora (Mulatero *et al.*, 2002). Svi pacijenti su podvrgnuti internističkom pregledu, rendgenskom snimku srca i pluća te rutinskom pregledu biohemije krvi u cilju isključivanja postojanja maligniteta i/ili drugih patoloških stanja. Svim pacijentkinjama sa AI je određen bazni hormonski status LH, folikulostimulišući hormon (FSH), estradiol, dehidroepiandrosteron sulfat (DHEAS), globulin koji vezuje polne hormone (*Engl. Sex Hormone Binding Globulin- SHBG*) te su sproveden oralni test opterećenja glukozom (OGTT) i endokrinološka evaluacija hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovine.

3.1.1. Odabir ispitanika

Ispitanici su odabrani na osnovu sledećih kriterijuma:

1. morali su biti ženskog pola uz poslednju menstruaciju najmanje godinu dana pre ispitivanja
2. nisu imali prethodno dijagnostikovanu šećernu bolest
3. nisu imali hroničnu bolest kao što su insuficijencija jetre ili bubrega, maligna bolest, alkoholizam, psihijatrijska, reumatološka, hematološka oboljenja ili tiroidna disfunkcija
4. u momentu ispitivanja nisu uzimali lekove iz grupe kortikosteroida, hormonsku supsticionu terapiju i agoniste ili antagoniste gonadotropin oslobađajućeg hormona (GnRH)

5. pacijenti sa feohromocitomom, kliničkim hiperkorticizmom, karcinomom kore nadbubrega, hiperaldosteronizmom, kongenitalnom adrenalnom hiperplazijom nisu uključeni u studiju.

Od 492 ispitanika, 121 ispitanik su bili muškarci. Od 371 ispitanika ženskog pola, 37 ih je bilo u reproduktivnom periodu, 61 je imalo šećernu bolest, 48 je imalo malignitete različitog porekla, 16 je imalo Kušingov sindrom, 11 je imalo feohromocitom, 5 primarni hiperaldosteronizam, 2 je imalo neurofibromatozu, 19 je imalo poremaćaj u radu tiroidne funkcije, 33 je imalo insuficijenciju jetre ili bubrega, 24 je uzimalo lekove koji interferiraju sa ispitivanjem, 16 je imalo depresiju a 24 je imalo nepotpune podatke.

Finalna grupa ispitanika je obuhvatila 75 žena u menopauzi sa adrenalnim incidentalom.

Kontrolnu grupu činila je trideset i jedna žena (volonteri) koje su uparene sa ispitanicama prema starosti, indeksu telesne mase (ITM), nivou LH i trajanju menopauze. Svi volonteri zdrave kontrolne grupe podvrgnuti su internističkom pregledu i ultrazvučnom pregledu abdomena da bi se isključilo postojanje uvećanja nadbubrega. Izvađena im je krv za određivanje biohemijskih analiza kao i baznog hormonskog statusa: kortizol, ACTH, LH, FSH, estradiol, testosteron, DHEAS, SHBG i insulin.

Na osnovu vrednosti kortizola nakon 1mg DSTa bolesnice sa AI su podeljene u dve podgrupe:

- 27 bolesnica sa 1mg DST kortizolom $<50\text{nmol/L}$ – nefunkcijski adrenalni incidentalomi (NAI) i
- 48 bolesnica sa 1mg DST kortizolom $>50\text{nmol/L}$ – (moguća) autonomna sekrecija kortizola ((M)AKS)

3.1.2. Oralni test opterećenja šećerom

OGTT je sproveden nakon 12-14h prekonoćnog gladovanja. U 08.00h ujutru ispitanicima je plasirana braunila u antekubitalnu venu nakon čega su popili 75g glukoze. Krv za analizu glikemije i insulina je uzeta u nultom, tridesetom, šezdesetom, devedesetom i stodvadesetom minutu testa. Pacijentima je postavljena dijagnoza šećerne bolesti ukoliko je vrednosti glikemije u 120. minutu bila $>11.1\text{mmol/L}$. Ako je vrednost glikemije u 120. minutu bila između 7.8 i 11.0mmol/L postavljena je dijagnoza intolerancije na glukozu a vrednost ispod 7.8mmol/L se smatrala normalnim odgovorom (American Diabetes Association, 2009).

3.1.3. Ispitivanje hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (HHN) osovine

Svi bolesnici su sakupili uzorke 24h urina tokom tri dana za određivanje kateholamina ili njihovih metabolita u urinu. Dalje, u 08.00h ujutru, nakon 48h od prijema u bolnicu, uzet je uzorak krvi za određivanje adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i kortizola, a potom je u 20.00h i 24.00h uzet uzorak za određivanje dnevnog ritma kortizola. Sledećeg dana uzeti su uzorci za određivanje aldosterona i plazma reninske aktivnosti u miru i naporu. Na kraju u 23.00h svi pacijenti su popili 1mg deksametazona sa određivanjem kortizola u 08.00h sledećeg dana, tj. sproveden je 1mg supresioni prekonoćni deksametazonski skrining test (1mg DST).

3.1.4. Dinamsko ispitivanje

Kod 14 bolesnica je jutro nakon 1mg DST-a u 08h uzet uzorak za određivanje kortizola te je intramuskularno dato 10000i.j humanog horionskog gonadotropina (dve Pregnyl ampule a 5000i.j.) i započeto određivanje kortizola na pola sata zaključno sa 180 minutom (Feelders *et al.*, 2003).

3.1.5. Procena insulinske rezistencije

Insuliska rezistencija je procenjivana na osnovu homeostatskog modela insulinske rezistencije (HOMA-IR) (Matthews *et al.*, 1985)

$$\text{HOMA-IR} = (\text{glikemija našte} \times \text{insulin našte}) / 22.5$$

3.2. Merenje biohemijskih i hormonskih parametara

Nivo glukoze u serumu je određivan pomoću metoda glukoza-oksidge (Beckman, Austrija). Insulin u serumu je određivan pomoću radioimunoeseja (RIA INSULIN (PEG), INEP, Belgrade, Serbia, sa intra- i inter-esejskim koeficijentom varijacije (KV) 2.5 i 7.7%). FSH i LH (mU/L) su određivani pomoću radioimunoeseja (ImmuChem FSH-CT, i ImmuChem LH CT, MP Biomedicals Inc, California, SAD sa intra- i inter-esejskim KV za FSH 2.6% i 8%, odnosno 2.4% i 7.3%). Serumski testosteron (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (TESTO-CT2, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska, sa intra- i inter-esejskim KV 3.1 i 5.2%). SHBG (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (SHBG-RIACT, Cisbio Bioassays, Codolet, Francuska, sa intra- i inter- esejskim KV

3.9 i 4.7%). DHEAS ($\mu\text{mol/L}$) je određivan pomoću radioimunoeseja (DHEAS-CT, MP Biomedicals Inc, California, SAD sa intra- i inter-esejskim KV 3.5 i 4%). Kortizol (nmol/L) je određivan pomoću radioimunoeseja (CORT-CT2, CIS bio international, Gif-Sur-Yvette Cedex, Francuska, sa intra- i inter- esejskim KV 3.8 i 4.3%). ACTH je određivan pomoću radioimunoeseja (ELSA-ACTH, Cisbio International, Francuska, sa intra- i inter-esejskim KV 3.1% to 8.9%).

3.3. Statistička obrada podataka

Podaci su analizirani metodama deskriptivne i analitičke statistike.

Od metoda deskriptivne statistike korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana), mere varijabiliteta (standardna devijacija i interkvartilni opseg), apsolutni i relativni brojevi.

Normalnost raspodele je testirana grafičkim i matematičkim metodama.

Za poređenje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa korišćen je t test (ili Mann Whitney test) za numeričke podatke i χ^2 test (ili Fisherov test) za nominalne podatke.

Za procenu značajnosti povezanosti korišćen je Pearson-ov koeficijent linearne korelacije (r) za varijable sa normalnom raspodelom i Spearman-ov koeficijent korelacije ranga (ρ) za varijable bez normalne raspodele.

Za utvrđivanje značajnih prediktora kontinuiranih varijabli korišćene su najpre univarijantna a potom multivarijantna linearna regresiona analiza.

Statistička značajnost je prihvaćena na nivou 0.05.

Rezultati su prikazani Tabelarno i grafički.

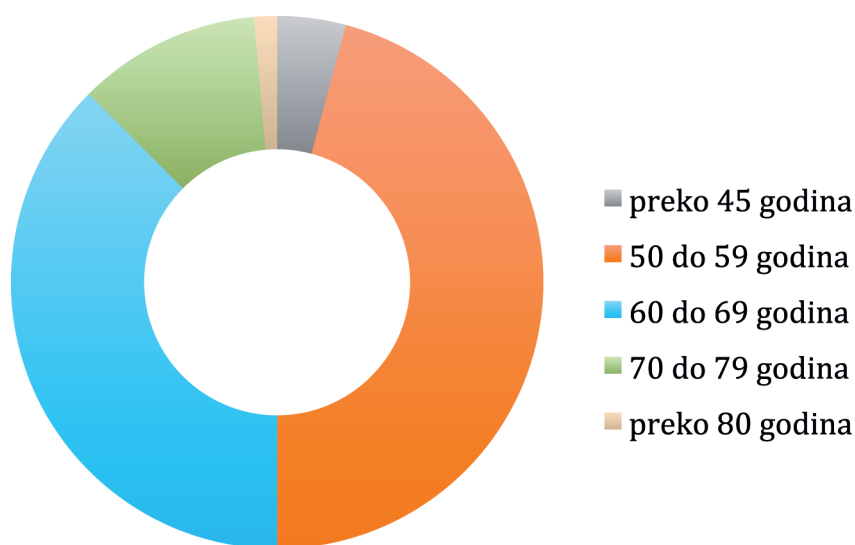
Za obradu podataka korišćen je softverski paket SPSS 21.0.

4. REZULTATI

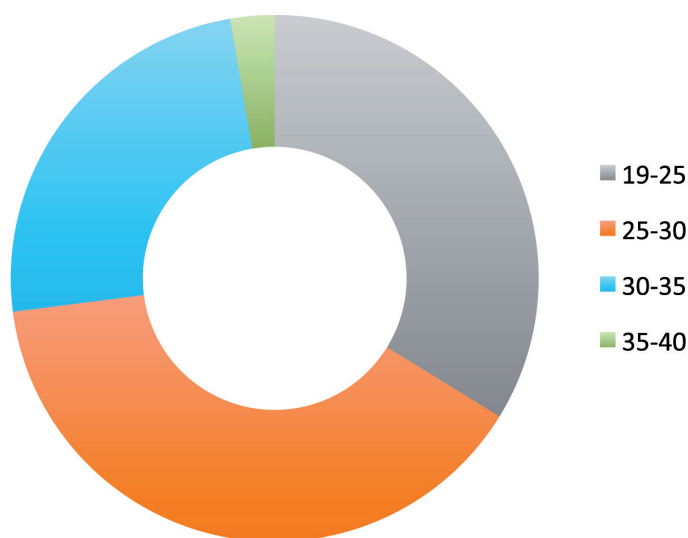
4.1. Generalne karakteristike ispitanica

Istraživanje je obuhvatilo 75 bolesnica sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega, prosečne starosti 60.13 ± 7.28 godina, prosečnog indeksa telesne mase (ITM) 27.60 ± 4.66 kg/m² i prosečnog trajanja menopauze 10.86 ± 7.79 godina.

Najveći broj ispitanica pripadao je starosnoj grupi od 50 do 59 godina starosti, Grafikon 1, a najveći broj ispitanica imao je indeks telesne mase od 19 do 30kg/m², Grafikon 2.

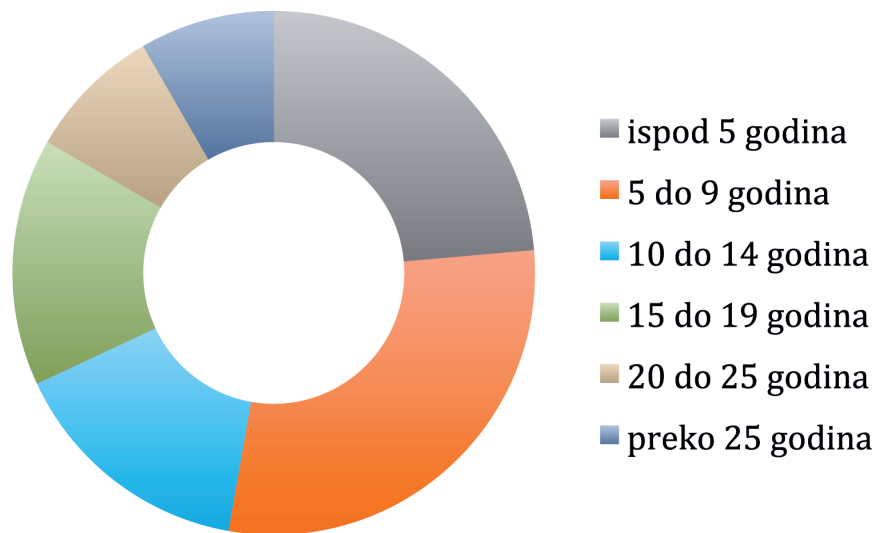


Grafikon 1. Zastupljenost ispitanica u odnosu na starost.



Grafikon 2. Zastupljenost ispitanica u odnosu na indeks telesne mase (kg/m²)

Najveći broj ispitanica bilo je u menopauzi između 5 i 9 godina, a najmanji preko 20 i preko 25 godina, Grafikon 3.



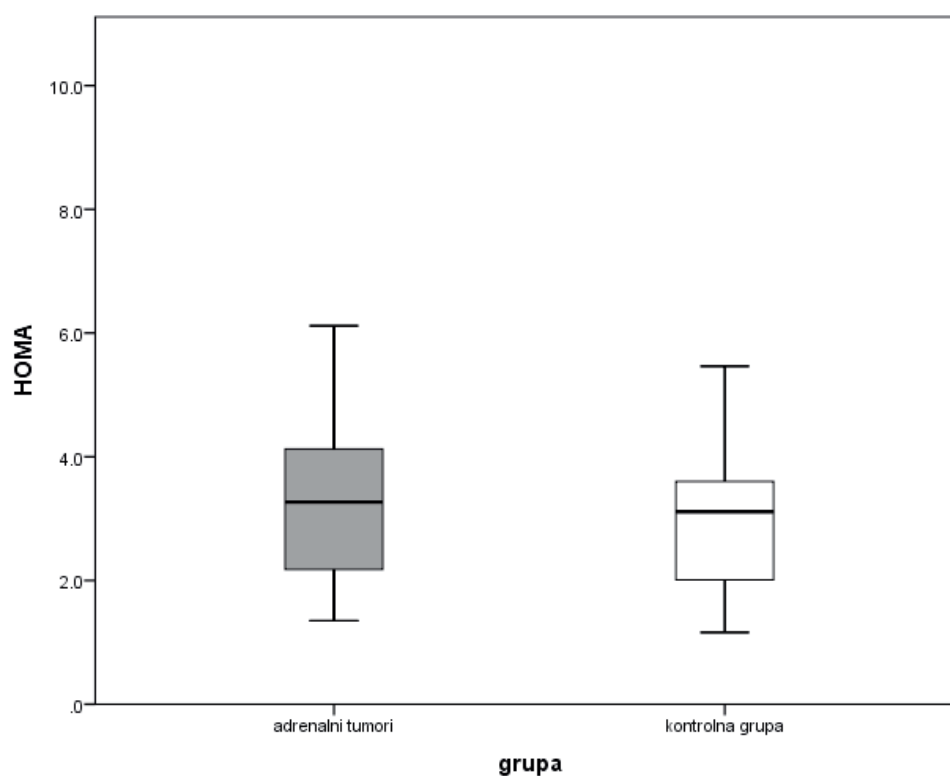
Grafikon 3. Zastupljenost ispitanica prema dužini trajanja menopauze.

Kontrolnu grupu činila je 31 žena, prosečne starosti 60.19 ± 6.34 godina, prosečnog ITM 26.90 ± 3.61 kg/m² i prosečnog trajanja menopauze 9.45 ± 5.72 godina, Tabela 2. Nije bilo statistički značajne razlike u navedenim parametrima između grupe sa AI i zdrave kontrole, kao ni u nivou LH, a HOMA-IR je bila značajno viša ($p=0.017$) u grupi žena sa AI nego u kontrolnoj grupi, Grafikon 4.

Tabela 2. Poređenje osnovnih karakteristika ispitanica

	AI (N=75)	Kontrola (N=31)	t test	DF	p
Starost	60.13±7.28	60.19±6.34	-0.040	104	0.968
ITM (kg/m²)	27.60±4.66	26.90±3.61	0.749	104	0.456
Trajanje menopauze (godine)	10.86±7.79	9.45±5.72	0.912	103	0.364
LH (IU/L)£	29.30(22.90-28.60)	23.75 (20.60-31.50)	288.500	NA	0.063
Kortizol 8h (nmol/L)	399.55±142.71	394.70±134.54	0.444	98	0.882
HOMA-IR	3.39±1.47	2.69±0.88	2.415	103	0.017

AI, adrenalni incidentalomi; ITM, Indeks telesne mase;
Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±SD: £ podaci su prikazani kao medijana (25th-75th percentil)



Grafikon 4. Poređenje HOMA-IR kod adrenalnih incidentaloma i kontrolne grupe

4.2. Podela ispitanica sa AI u odnosu na nivo supresije kortizola u 1mg DST-u

Na osnovu vrednosti kortizola nakon 1mg DSTa ispitanice sa AI su podeljene u dve podgrupe:

- 27 bolesnica sa 1mg DST kortizolom <50nmol/L – nefunkcijski adrenalni incidentalomi (NAI) i
- 48 bolesnica sa 1mg DST kortizolom >50nmol/L – (moguća) autonomna sekrecija kortizola ((M)ASK)

U grupi ispitanica sa mogućom autonomnom sekrecijom kortizola 45 (93.8%) je imalo najmanje još jedan poremećaj u hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovini:

- nizak ili suprimovan ACTH, ispod 15 ng/L
- i/ili povišen ponoćni kortizol, iznad 149 nmol/L

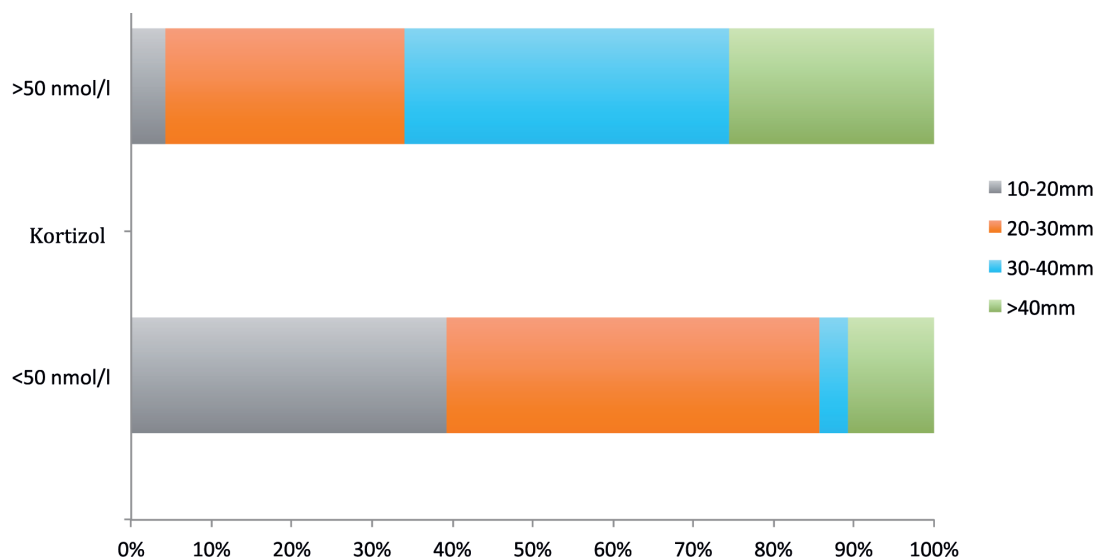
Nije bilo statistički značajne razlike u starosti, ITM i trajanju menopauze između žena sa (M)ASK i NAI, Tabela 3.

Tabela 3. Poređenje osnovnih karakteristika ispitanica u podgrupama

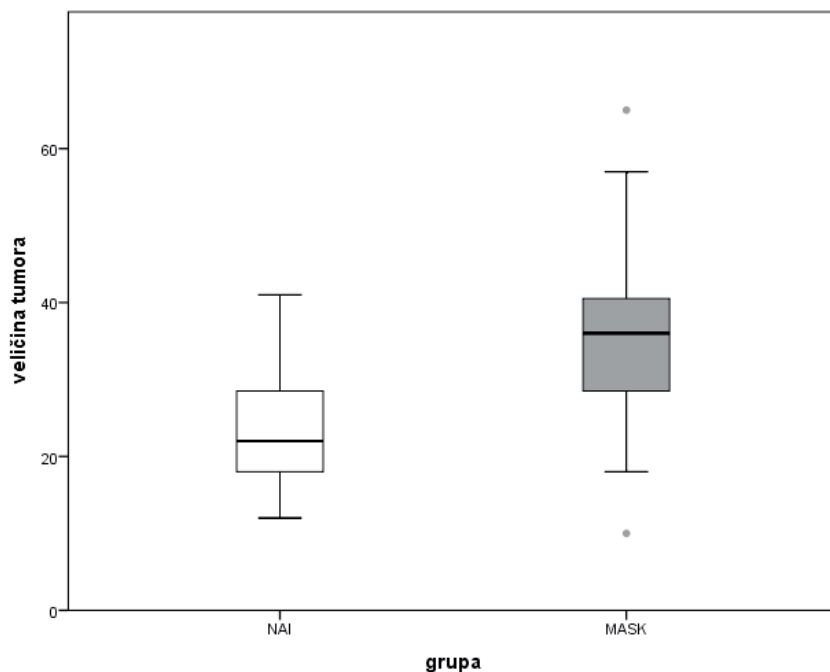
	NAI (N=27)	(M)ASK (N=48)	t test	DF	p
Starost (godine)	62.11±7.72	59.02±6.86	-1.790	73	0.078
ITM (kg/m²)	27.67±4.66	27.56±4.70	-0.096	73	0.924
Trajanje menopauze (godine)	11.35±8.04	10.60±7.71	-0.389	72	0.698

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±sd; ¥ podaci su prikazani kao n (%)
NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi;
(M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola, ITM, indeks telesne mase

Najveći broj ispitanica u NAI podgrupi imao je veličinu tumora između 10 i 30mm, dok je najveći broj ispitanica sa (M)ASK imao veličinu tumora preko 30mm, Grafikon 5. Incidentalomi su bili statistički značajno većih dimenzija u grupi pacijentkinja sa (M)ASK u poređenju sa NAI, Tabela 3, Grafikon 5.



Grafikon 5. Zastupljenost ispitanica prema veličini adrenalnih incidentaloma u odnosu na nivo supresije kortizola u 1mg prekonocnom deksametazonskom testu.



Grafikon 6. Poređenje veličine tumora prema podgrupama. NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola

4.3. Karakteristike ispitanica sa AI u odnosu na unilateralnost odnosno bilateralnost uvećanja

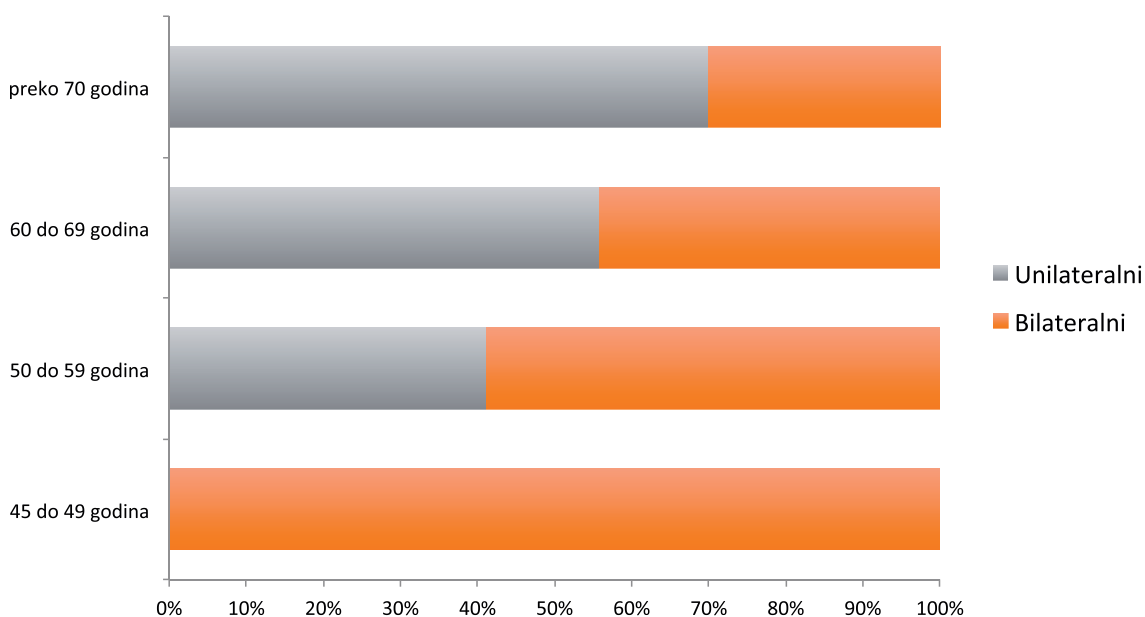
Grupu bolesnica sa AI činilo je 40 ispitanica sa unilateralnim AI i 35 ispitanica sa bilateralnim uvećanjima, Tabela 4, Grafikon 7.

Tabela 4. Poređenje karakteristika AI prema veličini i bilateralnosti u podgrupama

	NAI (N=27)	(M)ASK (N=48)	t test	DF	p
Veličina tumora (mm)	24.30±8.24	35.17±10.00	4.800	73	<0.001
Bilateralni tumori ¥	8 (22.9%)	27 (77.1%)			0.021

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±sd; ¥ podaci su prikazani kao n (%)

Žene sa unilateralnim tumorima su bile statistički značajno starije u poređenju sa ženama sa bilateralnim tumorima (p=0.003). Ispitanice starosti od 40-49 godina imale su gotovo samo bilateralna uvećanja, a zastupljenost bilateralnih uvećanja postepeno opada i najmanje su zastupljene kod žena starijih od 70 godina, Grafikon 7.



Grafikon 7. Zastupljenost unilateralnih odnosno bilateralnih adrenalnih incidentaloma u odnosu na starost ispitanica

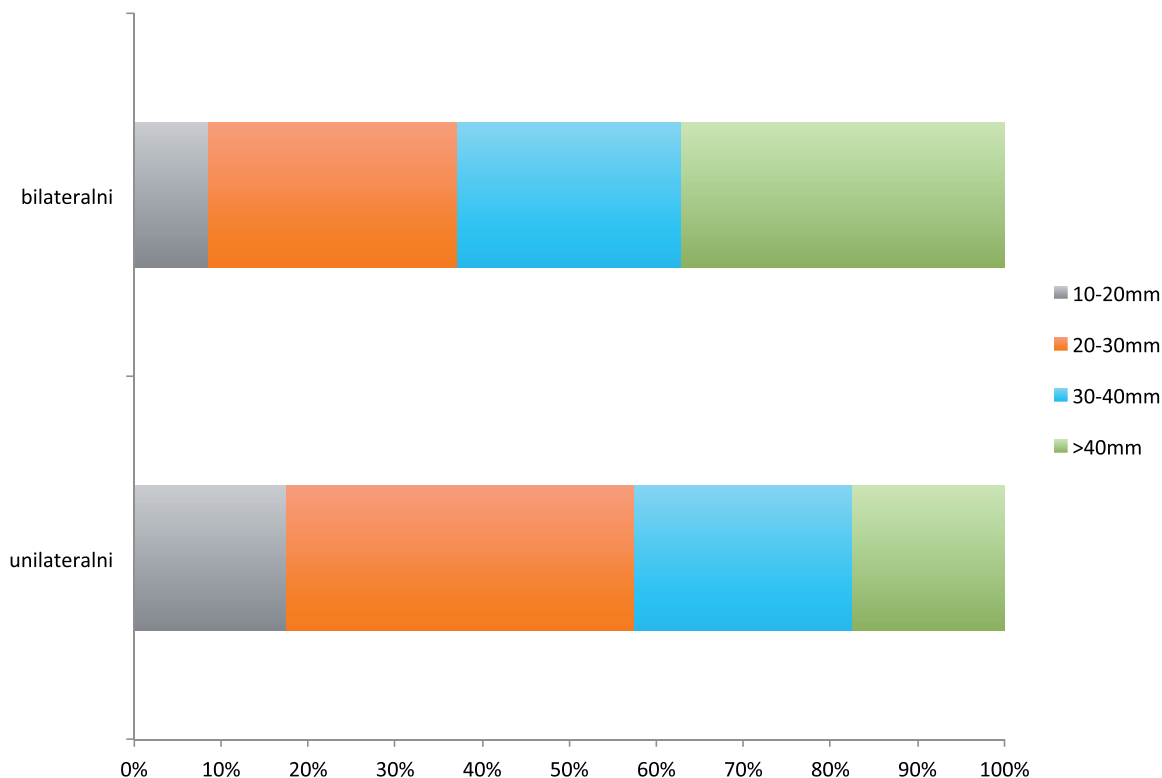
ITM je bio sličan, nije bilo statistički značajne razlike. Trajanje menopauze je bilo duže u grupi unilateralnih tumora, razlika je bila blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti ($p=0.056$). Vrednosti ACTH, kortizola u 08, 20 i 24 h se nisu statistički značajno razlikovale između grupa. Vrednosti 1mg DST kortizola bile su statistički značajno više u grupi žena sa bilateralnim tumorima. Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima LH i HOMA-IR između grupa, Tabela 5.

Tabela 5. Poređenje ispitanica sa unilateralnim i bilateralnim tumorima nadbubrega

	Unilateralni (N=40)	Bilateralni (N=35)	p
Starost (godine)	62.5 ± 6.7	57.6 ± 7.2	0.003
ITM(kg/m²)	27.7 ± 4.9	27.4 ± 4.5	0.788
trajanje menopauze (godine)	12.6 ± 8.1	9.1 ± 7.2	0.056
ACTH (ng/L)	12.9 ± 7.4	15.1 ± 9.3	0.266
kortizol 8 (nmol/L)	414.4 ± 151.1	372.1 ± 116	0.185
kortizol 20 (nmol/L)	162.7 ± 67.1	189.7 ± 76.5	0.113
kortizol 24 (nmol/l)	96.7 ± 42.5	110.6 ± 54.3	0.227
1 mg DST kortizol (nmol/l)	60.5 ± 32.5	96.6 ± 55.1	0.001
LH (IU/L)	31.2 ± 11.6	33.1 ± 16.4	0.559
HOMA-IR	3.3 ± 1.5	3.5 ± 1.5	0.579

r-Pirsonov koeficijent

Najveći broj ispitanica sa bilateralnim uvećanjima su imale tumor veličine preko 40mm dok su ispitanice sa unilateralnim uvećanjima imale najčešće tumore veličine između 20 i 30mm, Grafikon 8.



Grafikon 8. Raspodela veličine adrenalnih incidentaloma u odnosu na unilateralnost odnosno bilateralnost uvećanja.

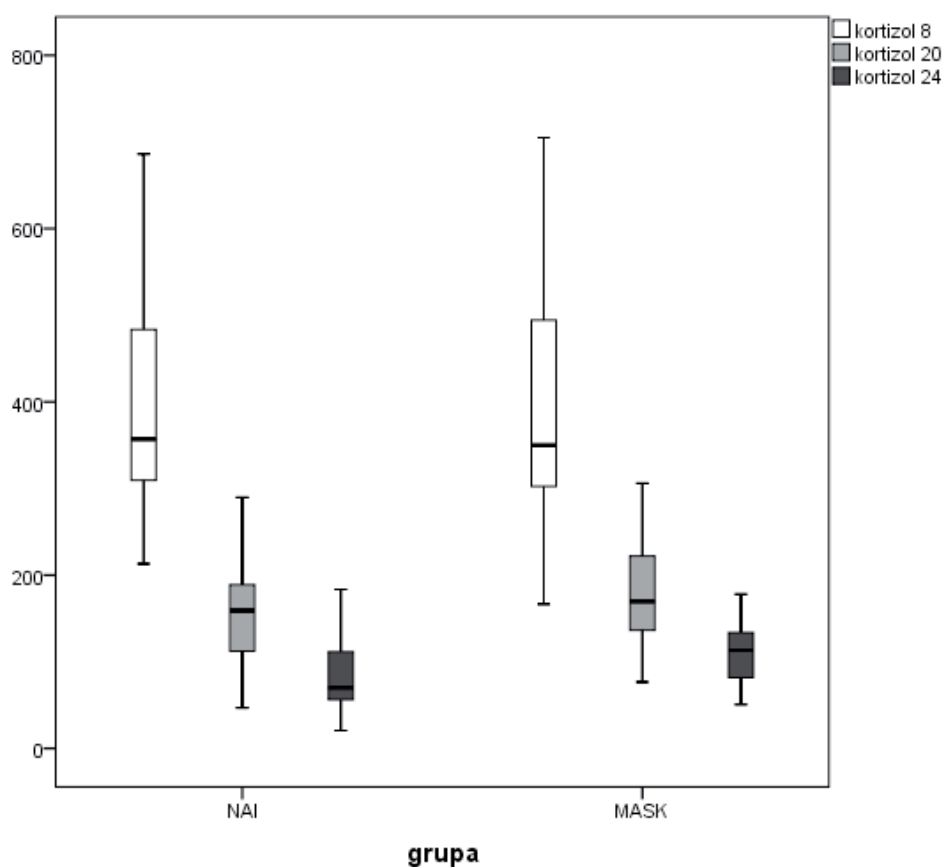
4.4. Karakteristike parametara hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovine ispitanica

Nivo ACTH, jutarnji kortizol, kao i kortizol u 08.00h su bili slični između podgrupa, nije bilo statistički značajne razlike. Kortizol u 20.00 h je bio viši kod bolesnica sa (M)ASK a razlika je bila blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti ($p=0.097$). Ponoćni kortizol i 1mg DST kortizol su bili statistički značajno viši kod bolesnica sa (M)ASK u odnosu na bolesnice sa NAI ($p=0.008$, odnosno $p<0.001$), Tabela 6, Grafikon 9, 10 i 11.

Tabela 6. Poređenje parametara HHN osovine prema podgrupama

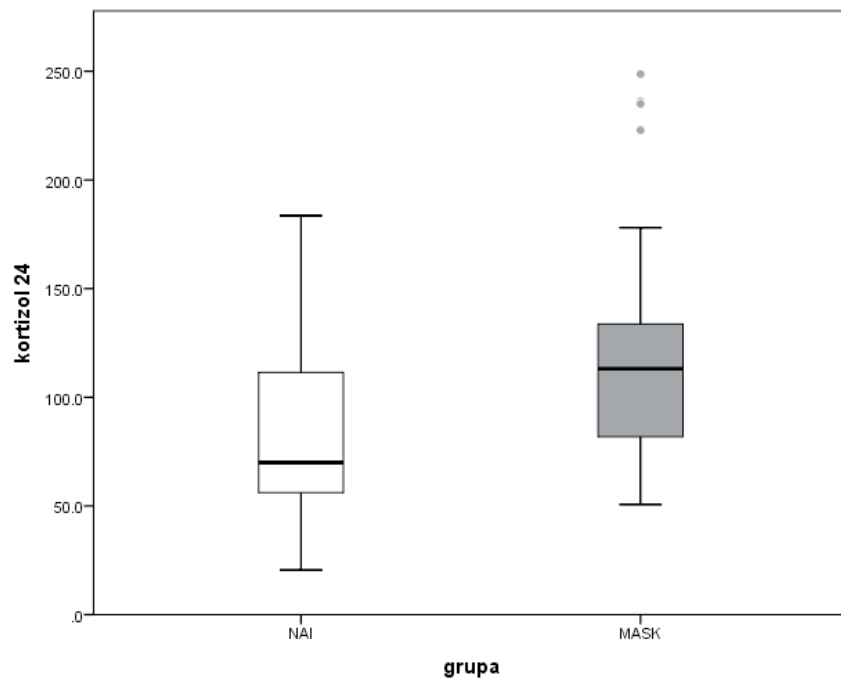
	NAI (N=27)	(M)ASK (N=48)	t test	DF	p
ACTH (ng/L)	15.87±9.47	12.81±7.41	-1.416	70	0.281
kortizol 8 (nmol/L)	401.61±138.72	398.38±146.35	-0.093	73	0.926
kortizol 20 (nmol/L)	158.09±68.43	187.12±73.25	1.680	72	0.097
kortizol 24 (nmol/L)	83.97±41.86	114.71±48.65	2.749	72	0.008
1mg DST kortizol (nmol/L)	33.52±10.07	102.64±41.81	10.905	73	<0.001

HHN, hipotalamus-hipofiza-nadbubreg; Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±SD.

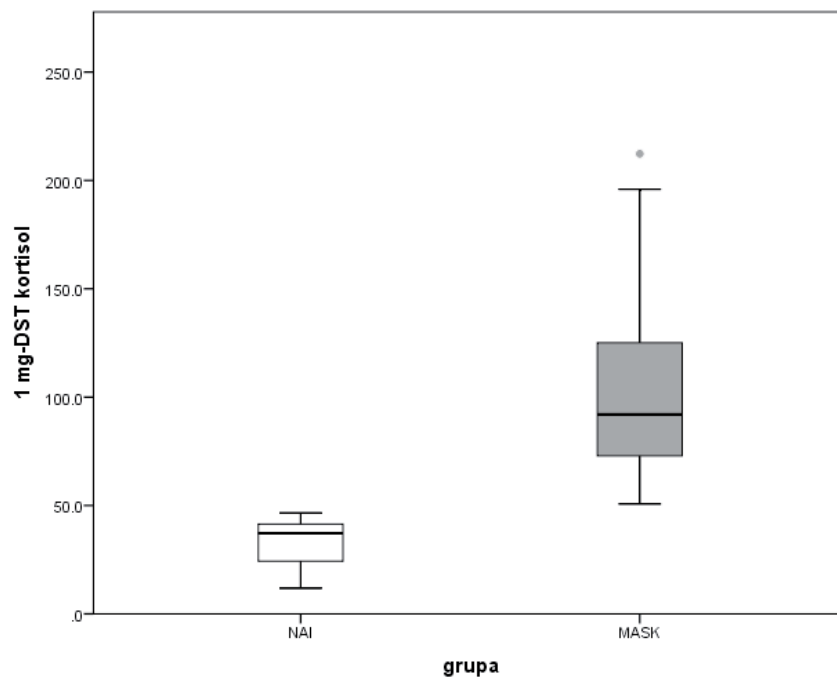


Grafikon 9. Dnevni ritam kortizola u podgrupama.

NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola



Grafikon 10. Poređenje nivoa ponoćnog kortizola u podgrupama. NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK – moguća autonomna sekrecija kortizola



Grafikon 11. Poređenje nivoa 1mg DST kortizola u podgrupama. NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola

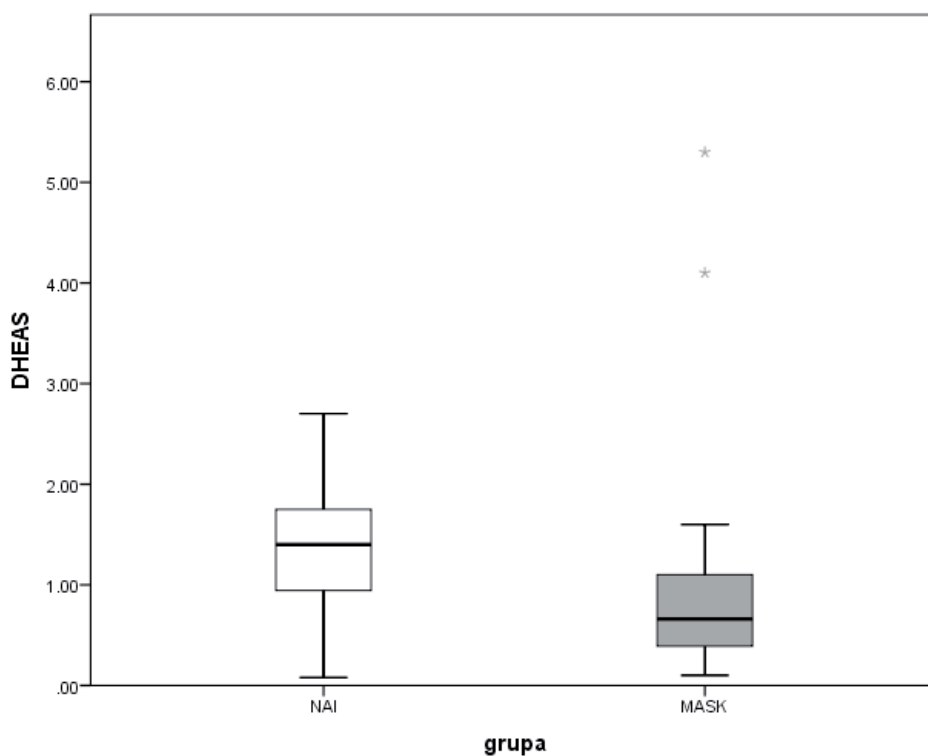
4.5. Karakteristike polnih hormona ispitanica

Vrednosti LH i testosterona su bile slične između grupa, nije bilo statistički značajne razlike. Medijana FSH i estradiola su bile više u grupi nefunkcijskih tumora, ali razlika nije bila statistički značajna u odnosu na incidentalome sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola. Nivo ije bio statistički značajno niži u grupi žena sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola ($p < 0.001$), Tabela 7, Grafikon 12.

Tabela 7. Poređenje polnih hormona

	NAI (N=27)	(M)ASK (N=48)	t test	DF	p
LH (IU/L)	31.80±11.88	31.83±15.43	0.008	73	0.994
FSH (IU/L)£	107.10 (68.10-131.40)	84.60 (57.65-117.90)	510.500£	NA	0.129
Estradiol (pmol/L)£	33.20 (18.30-38.00)	21.15 (13.75-38.35)	264.000£	NA	0.167
Testosteron (nmol/L)£	1.10 (0.73-1.57)	1.01 (0.73-1.40)	408.000£	NA	0.637
DHEAS (µmol/L)£	1.40 (0.89-1.80)	0.66 (0.39-1.10)	229.500£	NA	<0.001

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±sd: £ podaci su prikazani kao medijana (25th-75th percentil).
NAI – nefunkcijski adrenalni incidentalomi;
(M)ASK – moguća autonomna sekrecija kortizola



Grafikon 12. Poređenje nivoa DHEAS u podgrupama. NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola

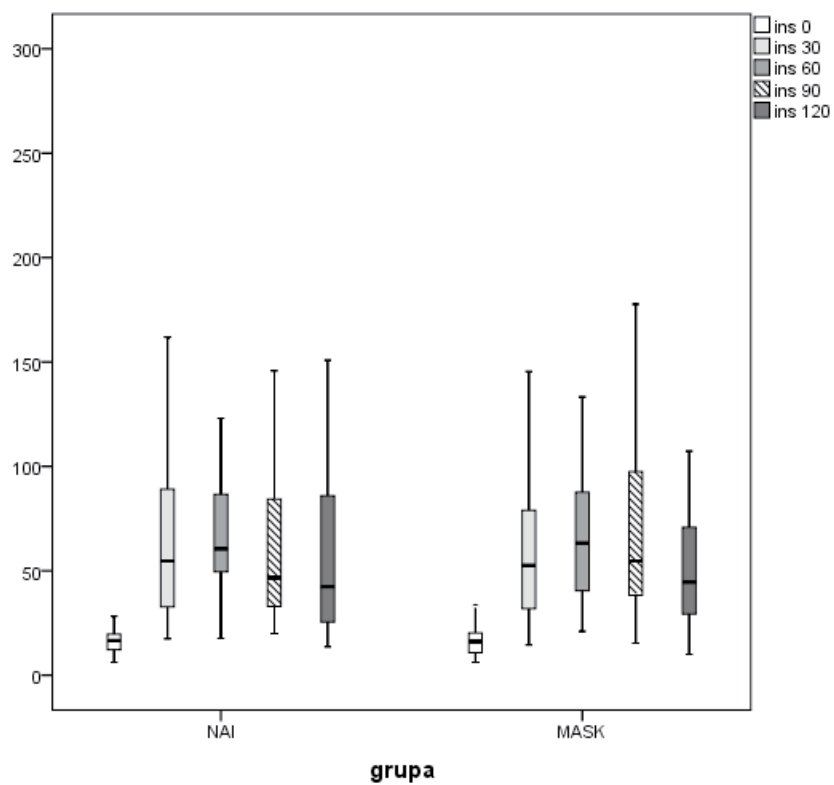
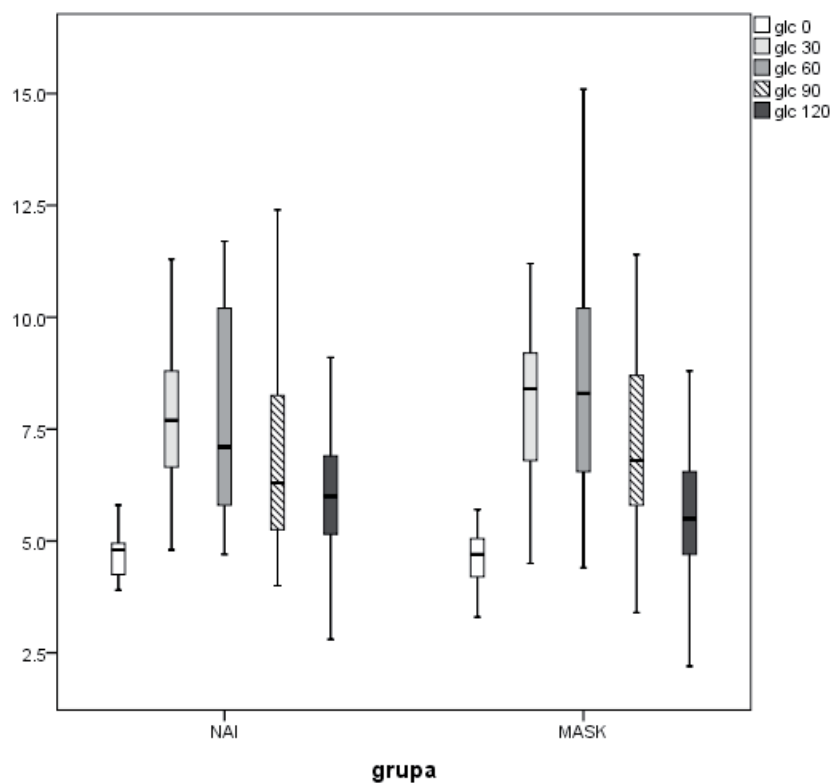
4.6. Karakteristike parametara OGTT-a

Vrednosti glikemije i insulina u toku OGTT-a su bile slične, nije bilo statistički značajne razlike između grupa ($p > 0.05$), Tabela 8, Grafikon 13.

Tabela 8. Poređenje parametara OGTTa i insulinske rezistencije

	NAI (N=27)	(M)ASK (N=48)	t test	DF	p
HOMA-IR	3.35±1.33	3.41±1.56	0.163	73	0.877
Glikemija 0' (mmol/L)	4.69±0.49	4.67±0.58	-0.133	73	0.895
Insulin 0' (µIU/ml)	16.00±5.80	16.44±6.90	-0.280	73	0.781

Podaci su prikazani kao aritmetička sredina±SD. NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola; HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije; NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola



Grafikon 13. Prikaz OGTT glikemija i insulina u podgrupama.

4.7. Ispitivanje povezanosti LH sa osnovnim karakteristikama ispitanica

Postojala je statistički značajna negativna korelacija između LH i trajanja menopauze u celoj grupi ($r=-0.299$; $p=0.010$), Tabela 9, kao i u podgrupi bolesnica sa (M)ASK ($r=-0.325$; $p=0.026$), dok u NAI podrupi ova povezanost nije bila statistički značajna ($r=-0.253$, $p=0.202$), Grafikon 14.

Postojala je statistički značajna pozitivna korelacija između LH i HOMA-IR u celoj grupi ($r=0.230$; $p=0.047$), Tabela 7, kao i u podgrupi bolesnika sa (M)ASK ($r=0.353$; $p=0.017$), dok u NAI podrupi ova povezanost nije bila statistički značajna ($r=-0.097$, $p=0.623$), Grafikon 15.

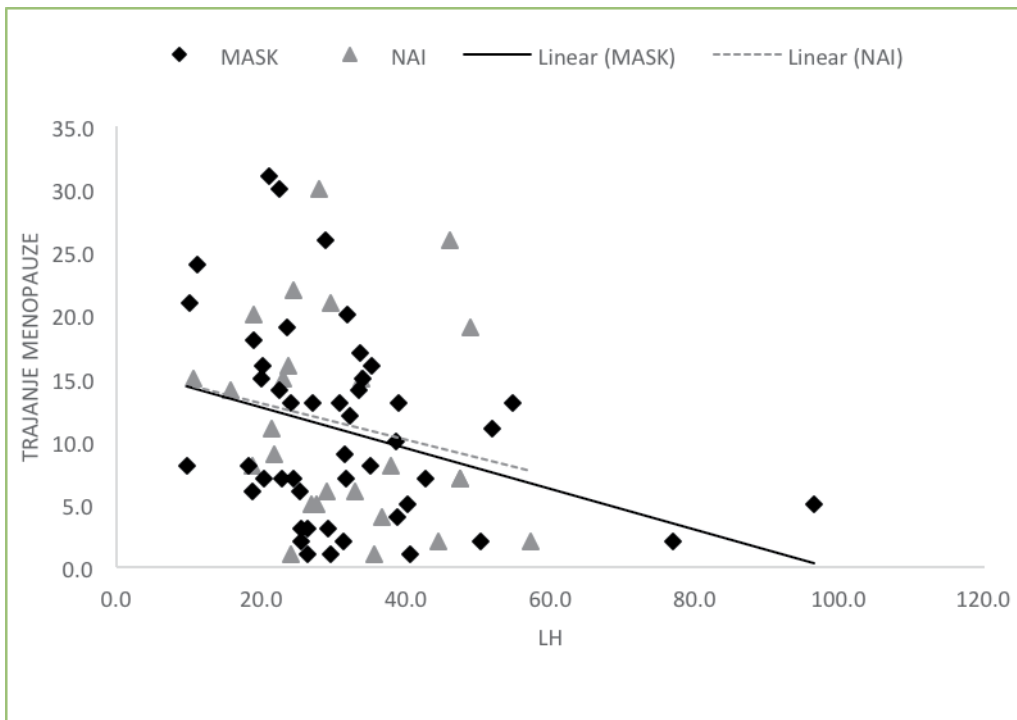
Postojala je pozitivna korelacija između LH i 1 mg DST kortizola u celoj grupi ($r=0.196$; $p=0.092$), Tabela 7, koja je bila statistički značajna u (M)ASK podgrupi ($r=0.342$; $p=0.019$), dok u NAI podrupi ova povezanost nije bila statistički značajna ($r=0.151$; $p=0.444$), Grafikon 16.

Nije bilo statistički značajne povezanosti između LH sa starošću, ITM i veličinom tumora u celoj grupi i podgrupama NAI i (M)ASK, Tabela 9.

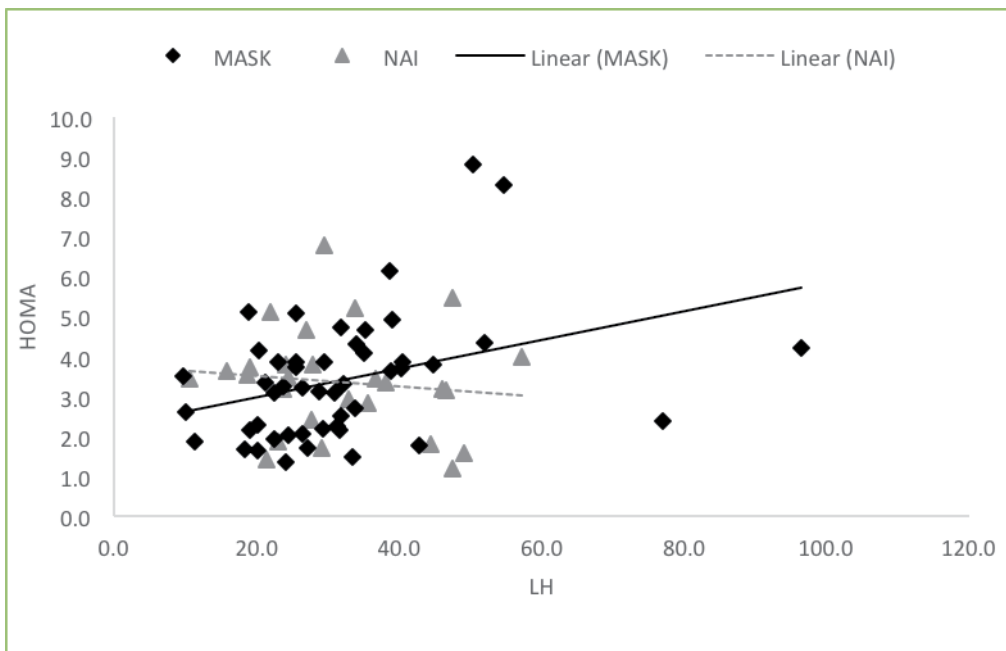
Tabela 9. Korelacija LH sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe

LH	r	p
Starost	-0.203	0.081
ITM	-0.077	0.512
trajanje menopauze	-0.299	0.010
1 mg DST kortizol	0.196	0.092
veličina tumora	-0.016	0.892
HOMA-IR	0.230	0.047

r-Pirsonov koeficijent korelacije; HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije, ITM, indeks telesne mase; 1 mg DST, 1mg prekonocni deksametazonski supresioni test.

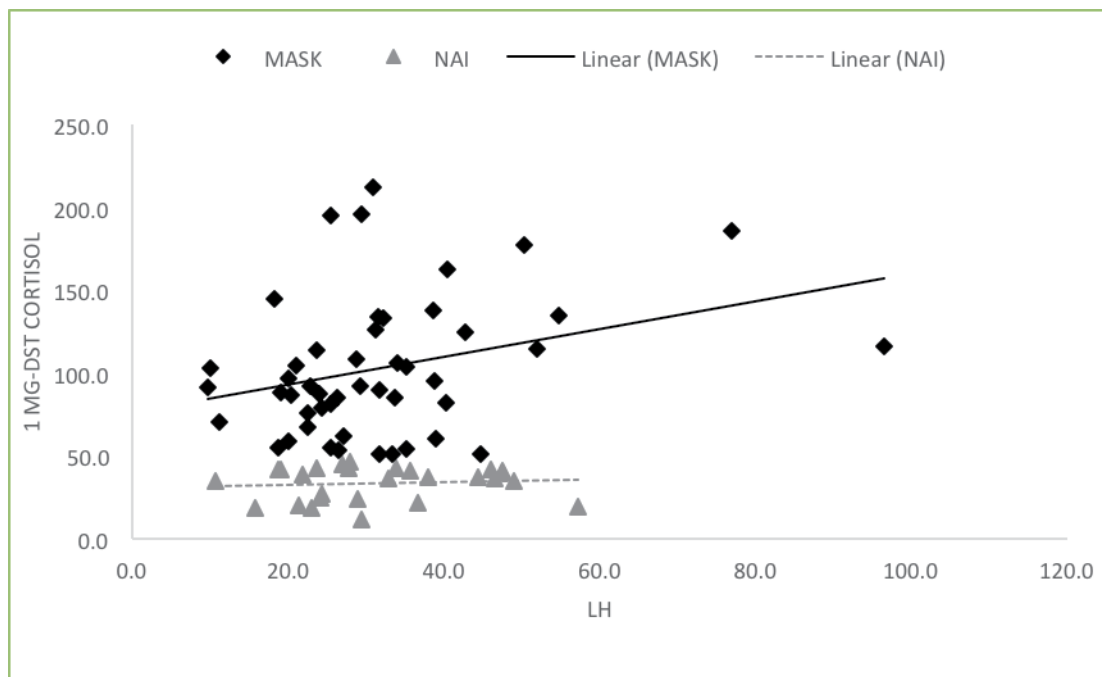


Grafikon 14. Korelacija LH i trajanja menopauze



Grafikon 15. Korelacija LH i HOMA-IR

NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola.
HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije



Grafikon 16. Korelacija LH i 1mg DST kortizolom.

NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola.
1mg DST kortizol, 1mg prekonozni deksametazonski supresioni test.

4.8. Ispitivanje povezanosti HOMA-IR sa osnovnim karakteristikama ispitanica

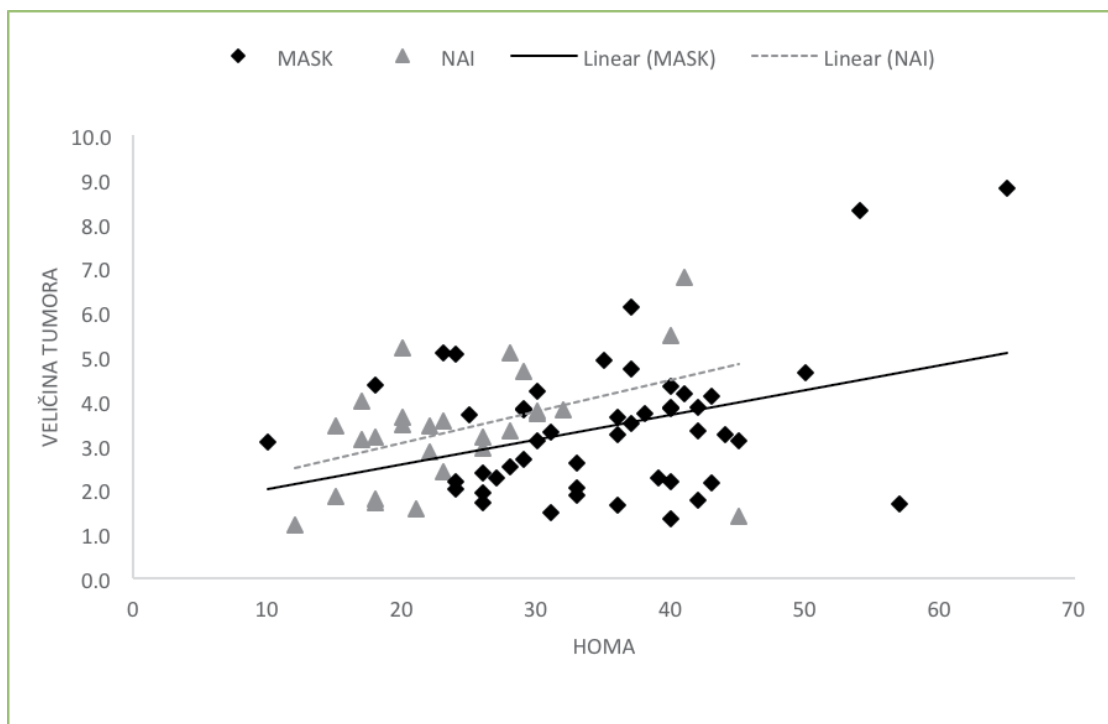
Osim prethodno opisane korelacije između LH i HOMA-IR, postojala je i statistički značajna povezanost između veličine adrenalnog tumora i HOMA-IR u celoj grupi ($r=0.341$; $p=0.003$) koja je postala jača i značajnija u podgrupama: (M)ASK ($r=0.362$, $p=0.012$) i NAI ($r=0.445$, $p=0.018$), Tabela 10, Grafikon 17.

Nije bilo statistički značajne povezanosti sa starošću, ITM, trajanjem menopauze, 1mg DST kortizolom u celoj grupi niti u podgrupama, Tabela 10.

Tabela 10. Korelacija HOMA-IR sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe

HOMA-IR	r	p
Starost	0.022	0.85
ITM	0.127	0.279
trajanje menopauze	-0.08	0.498
1 mg DST kortizol	0.149	0.203
LH	0.230	0.047*
veličina tumora	0.341	0.003*

r-Pirsonov koeficijent korelacije, HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije; ITM, indeks telesne mase.



Grafikon 17. Korelacija veličine tumora i HOMA-IR.

NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola.
HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije

4.8.1. Univarijantna i multivarijantna regresiona analiza sa HOMA-IR kao zavisnom varijablom

U univarijantnu regresionu analizu sa zavisnom varijablom HOMA-IR su bile uključene sledeće varijable: ITM, starost, trajanje menopauze, 1mg DST kortizol, FSH, LH, estrogen, seks hormon vezujući globulin (SHBG), DHEAS, testosteron i veličina tumora, Tabela 11. Samo su LH i veličina tumora statistički značajno određivali HOMA-IR.

Tabela 11. Univarijantni regresioni model sa HOMA-IR kao zavisnom varijablom

Varijabla	B	Beta	p	95.0% interval poverenja	
				Donja granica	Gornja granica
ITM	0.04	0.127	0.279	-0.033	0.113
Starost	0.004	0.022	0.850	-0.043	0.052
trajanje menopauze	-0.015	-0.08	0.498	-0.060	0.029
LH	0.024	0.23	0.047	0.000	0.047
ACTH	-0.012	-0.07	0.560	-0.055	0.030
1 mg DST kortizol	0.005	0.149	0.203	-0.003	0.012
FSH	0.002	0.076	0.517	-0.005	0.009
E2	-0.001	-0.002	0.986	-0.007	0.007
SHBG	0.003	0.088	0.516	-0.007	0.014
DHEAS	-0.098	-0.064	0.618	-0.486	0.291
Testosteron	-0.001	0.018	0.888	-0.000	0.000
Veličina tumora	0.047	0.015	0.003	0.017	0.077

ITM, indeks telesne mase; 1mg DST kortizol, kortizol nakon prekonocnog skrining testa;

4.8.2. Multivarijantna regresiona analiza

U multivarijantnom regresionom modelu sa prilagođavanjem za starost, ITM i 1mg DST kortizol, varijable LH i veličina tumora su ostale statistički značajno udružene sa HOMA-IR, Tabela 12.

Tabela 12. Multivarijantni regresioni model sa HOMA-IR kao zavisnom varijablom

	B (95% CI)	p	B (95% CI)£	p£	B (95% CI)§	p§
Veličina tumora	0.047 (0.018-0.077)	0.002	0.049 (0.018-0.079)	0.002	0.058 (0.021-0.095)	0.002
LH	0.024 (0.002-0.047)	0.032	0.028 (0.005-0.051)	0.017	0.030 (0.007-0.053)	0.012

£ - kontrolisano za starost i ITM; § - kontrolisano za starost; ITM, indeks telesne mase; 1mg DST kortizol, kortizol nakon prekonoćnog skrining testa;

4.9. Korelacija 1mg DST kortizola sa osnovnim karakteristikama ispitanica

Kao što je prethodno navedeno, postojala je pozitivna korelacija između 1 mg DST kortizola i LH u celoj grupi ($r=0.196$; $p=0.092$), Tabela 9, Tabela 13, koja je bila statistički značajna u (M)ASK podgrupi ($r=0.342$; $p=0.019$), dok u NAI podrupi ova povezanost nije bila statistički značajna ($r=0.151$; $p=0.444$), Grafikon 18.

Dalje, povezanost između 1 mg DST kortizola i veličine tumora je bila pozitivna i statistički značajna ($r=0.568$; $p<0.001$) u celoj grupi i (M)ASK podgrupi ($r=0.439$, $p=0.002$), ali ne i u NAI podgrupi ($r=-0.076$, $p=0.706$), Grafikon 18.

Postojala je statistički značajna pozitivna korelacija između 1 mg DST kortizola i ponoćnog kortizola ($r=0.549$, $p<0.001$) u celoj grupi, Tabela 13, koja je bila statistički značajna u (M)ASK podgrupi ($r=0.578$, $p<0.001$), ali ne i u NAI podgrupi ($r=0.138$, $p=0.493$). Korelacija između starosti i 1 mg DST kortizola je bila negativna ($r=-0.245$; $p=0.034$) u celoj grupi, Tabela 13, dok se ova značajnost nije održavala u podgrupama NAI ($r=0.167$; $p=0.396$) i (M)ASK ($r=-0.242$; $p=0.101$).

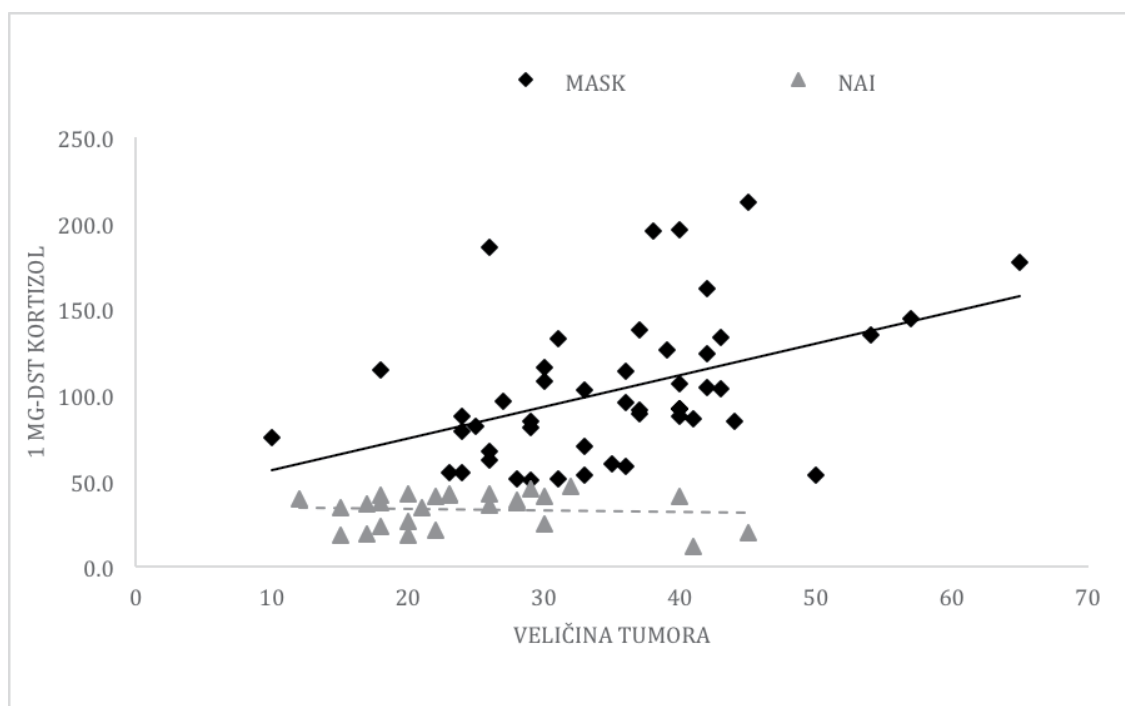
Nije bilo statistički značajne povezanosti trajanja menopauze i ITM sa 1 mg DST kortizolom u celoj grupi i podgrupama, Tabela 13.

Tabela 13. Korelacija 1 mg DST kortizola sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe

1mg DST kortizol	r	p
starost	-0.245	0.034
ITM	0.020	0.864
trajanje menopauze	-0.157	0.181
kortizol 24	0.549	<0.001
LH	0.196	0.092
HOMA-IR	0.149	0.203
veličina tumora	0.568	<0.001

r-Spearmanov koeficijent korelacije;

1mg DST kortizol, kortizol nakon prekonocnog supresionog testa; ITM, indeks telesne mase; kortizol 24, ponoćni kortizol; HOMA-IR, homeostatski model insulinske rezistencije;



Grafikon 18. Korelacija između 1 mg DST kortizola i veličine tumora. 1mg DST, 1mg prekonocni deksametazonski supresioni test; NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola

4.10. Korelacija DHEAS sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe

Postojala je statistički značajna negativna korelacija između DHEAS i 1mg DST kortizola u celoj grupi ($r=-0.550$; $p<0.001$), Tabela 14.

Analizirajući posebno povezanost prema podgrupama, statistički značajna povezanost je uvrđena u (M)ASK podgrupi ($r=-0.340$; $p=0.032$) dok se u NAI podrupi značajnost izgubila ($r=-0.247$; $p=0.245$), Grafikon 19.

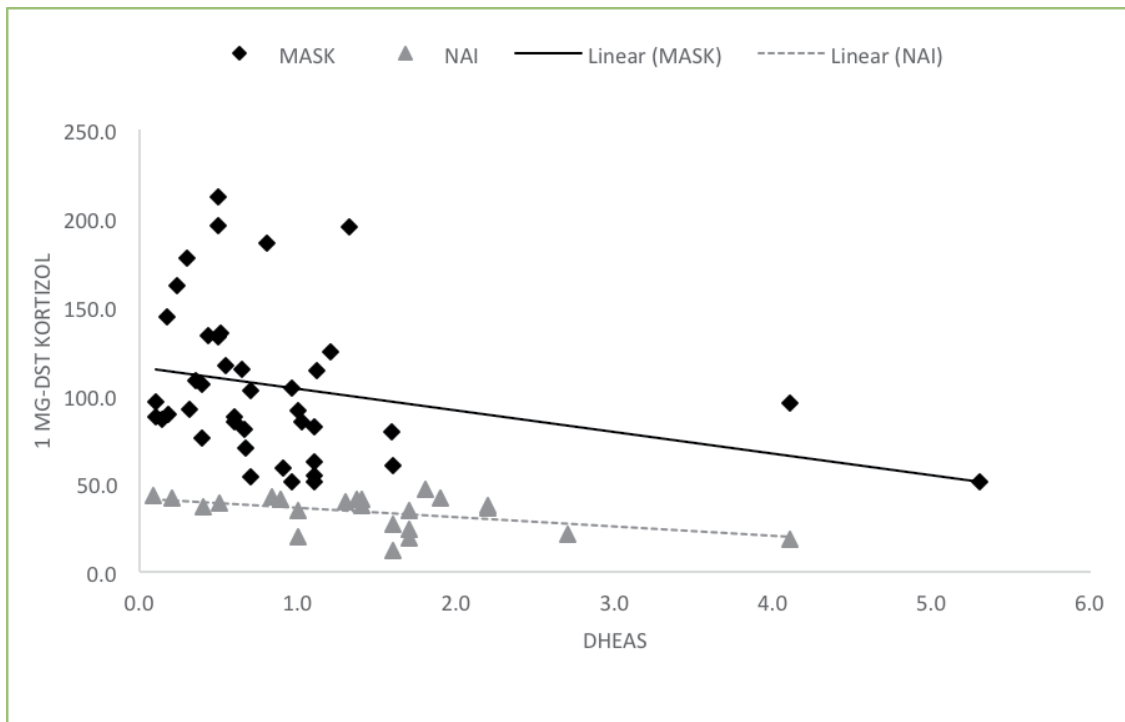
Postojala je statistički značajna negativna korelacija između DHEAS i veličine tumora u celoj grupi ($r=-0.345$; $p=0.005$), Grafikon 20. Analizirajući posebno povezanost prema podgrupama, nije utvrđena statistički značajna povezanost u (M)ASK ($r=-0.207$; $p=0.199$) ni u NAI podrupi ($r=-0.192$; $p=0.370$).

Nije bilo statistički značajne povezanosti godina, ITM, trajanja menopauze, LH i HOMA-IRu celoj grupi i podgrupama NAI i (M)ASK, Tabela 14.

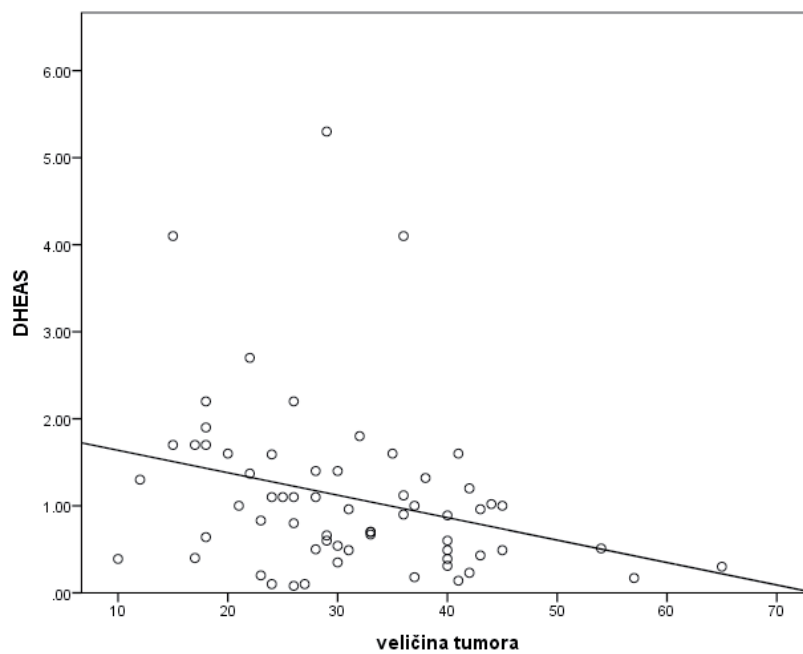
Tabela 14. Korelacija DHEAS sa osnovnim karakteristikama ispitanica na nivou cele grupe

DHEAS	r	p
starost	-0.076	0.552
ITM	0.016	0.898
trajanje menopauze	-0.114	0.374
1 mg DST kortizol	-0.550	<0.001
LH	0.191	0.131
veličina tumora	-0.345	0.005
HOMA-IR	-0.057	0.656

r-Spearmanov koeficijent korelacije



Grafikon 19. Korelacija između DHEAS i 1 mg DST kortizola. 1mg DST kortizol, kortizol nakon prekonocnog supresionog testa; NAI, nefunkcijski adrenalni incidentalomi; (M)ASK, moguća autonomna sekrecija kortizola



Grafikon 20. Korelacija DHEAS i veličine tumora

4.11. Korelacija aldosterona sa osnovnim karakteristikima ispitanica na nivou cele grupe

Korelacije sa aldosteronom u podgrupi žena su prikazane u tabeli 13. Nije bilo statistički značajne povezanosti nivoa aldosterona u miru sa starošću, ITM, trajanjem menopauze, 1mg DST kortizolom, LH, DHEAS, veličinom tumora i HOMA-IR, Tabela 15.

Tabela 15. Korelacije aldosterona sa osnovnim karakteristikima ispitanica na nivou cele grupe

Aldosteron	r	p
starost	0.057	0.652
ITM	0.033	0.794
trajanje menopauze	0.001	0.993
1 mg DST kortizol	0.031	0.809
LH	0.139	0.268
DHEAS	0.163	0.231
veličina tumora	-0.066	0.599
HOMA-IR	0.044	0.726

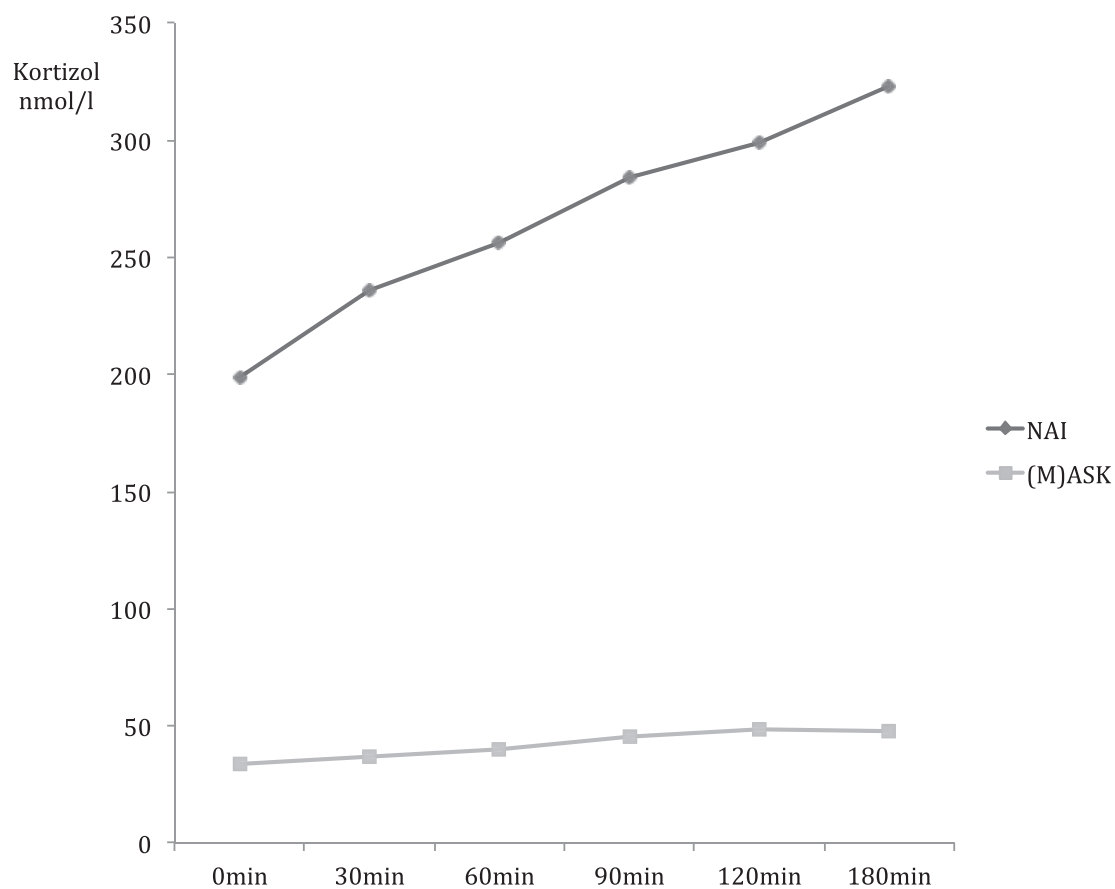
r-Spearmanov koeficijent korelacije

4.12. Dinamsko ispitivanje

Kod ukupno 14 ispitanica je jutro nakon nakon 1mg prekonocnog deksametazonskog supresionog testa dobilo 10000ij hCGa intramuskularno sa odredivanjem kortizola na 30 min do 180 min pocevši od osam sati ujutru. Sedam ispitanica imalo je nefunkcijske adrenalne incidentalome, a sedam je imalo adrenalni incidentalom sa (mogucom) autonomnom sekrecijom kortizola, Tabela 16, Grafikon 21.

Tabela 16. Nivo kortizola tokom stimulacije pregnilom kod ispitanica sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima (NAI) i ispitanica sa adrenalnim incidentalomima i (mogucom) autonomnom sekrecijom kortizola

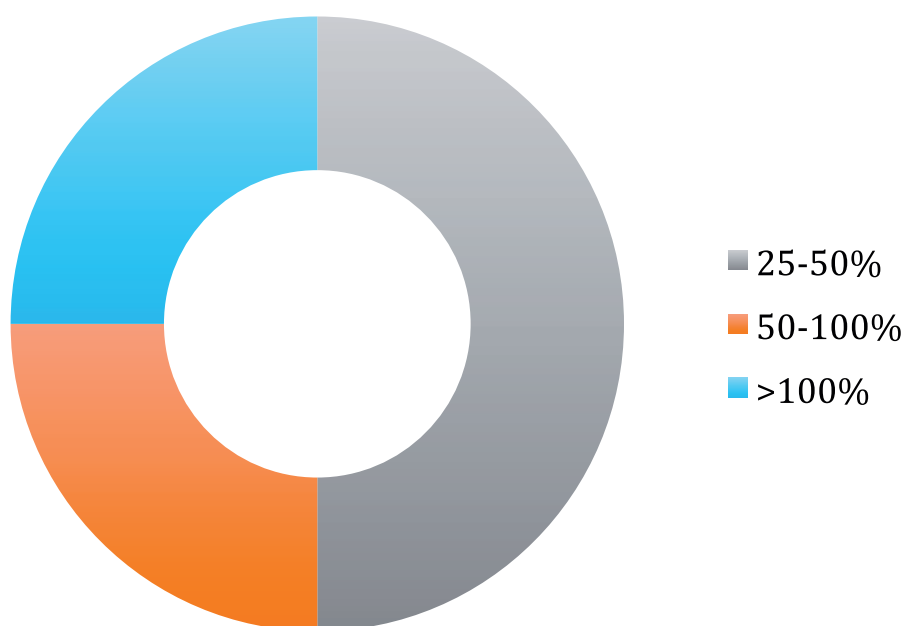
	NAI (N=7)		(M)ASK (N=7)	
	aritmetička sredina±sd	medijana (25-75 percentil)	aritmetička sredina±sd	medijana (25-75 percentil)
Kortizol 0' (nmol/L)	33.4 ± 11.0	27.8 (24.1-45.5)	198.8 ± 153.9	167.9 (120.1-206)
Kortizol 30' (nmol/L)	36.8 ± 10.9	32.1 (27.5-49.1)	236.1 ± 157.2	202.4 (124.8-288.7)
Kortizol 60' (nmol/L)	39.9 ± 11.2	43.0 (28.9-50.2)	256.1 ± 168.4	209.8 (125.1-385.6)
Kortizol 90' (nmol/L)	45.6 ± 16.2	43.5 (30.2-61.3)	284.1 ± 198.1	213.4 (126.8-502.2)
Kortizol 120' (nmol/L)	48.4 ± 17.3	46.9 (33.8-69)	298.7 ± 217.6	223.8 (127.7-516.2)
Kortizol 180' (nmol/L)	47.7 ± 16.6	44.6 (31.1-67.4)	322.8 ± 231.9	248.6 (129.8-589.9)



Grafikon 21. Nivo kortizola tokom stimulacije pregnilom kod ispitanica sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima (NAI) i ispitanica sa adrenalnim incidentalomima i (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola

Odgovorom na intramuskularnu primenu 10000i.j. Pregnyl ampula smatrao se porast kortizola preko 25% u odnosu na 0min. Od 14 ispitanica ukupno 11 je imalo odgovor kortizola, 5 sa NAI i 6 sa AI i (M)ASK, Tabela 17, Grafikon 22, 23 i 24.

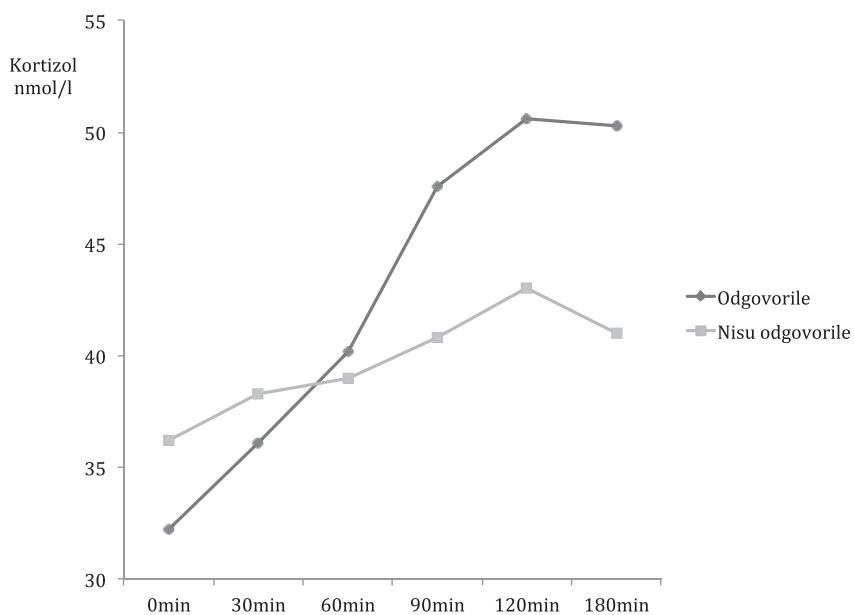
Maksimalni odgovor u grupi sa NAI bio je 74% u odnosu na početnu vrednost a u grupi sa (M)ASK 186% u odnosu na početnu vrednost. Najniži odgovor u grupi sa NAI bio je 27% a u grupi sa (M)ASK 42%. Prosečan odgovor ispitanica sa NAI bio je 44% a ispitanica sa (M)ASK 98%.



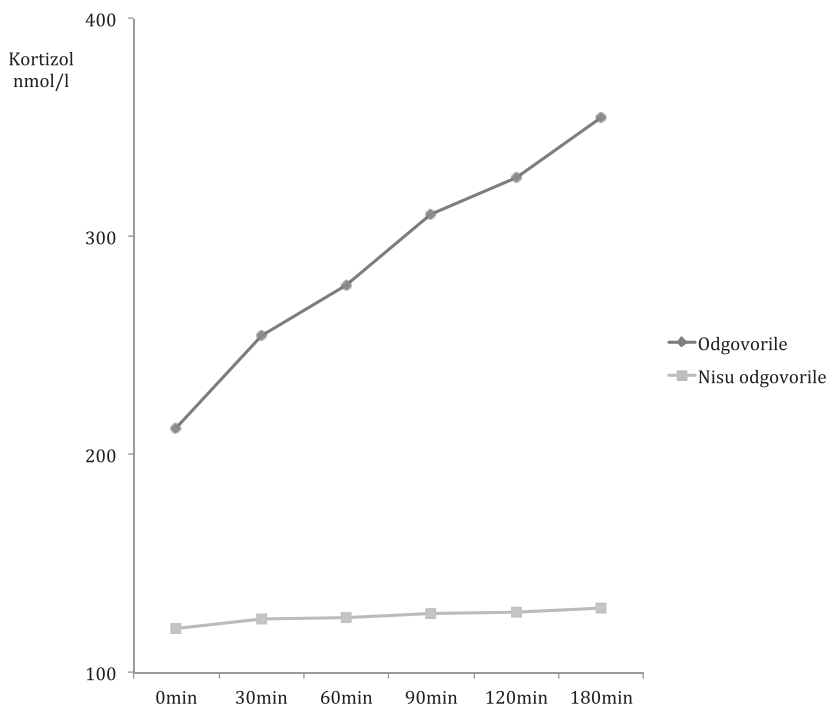
Grafikon 22. Prikaz raspodele ispitanica kod kojih je zabeležen odgovor kortizola nakon stimulacije Pregnilom u odnosu na maksimalni porast kortizola tokom testa.

Tabela 17. Nivo kortizola tokom stimulacije pregnilom kod ispitanica sa odgovorom kortizola

	NAI (N=5)		(M)ASK (N=6)	
	aritmetička sredina±sd	medijana (25-75 percentil)	aritmetička sredina±sd	medijana (25-75 percentil)
Kortizol 0' (nmol/L)	32.24 ± 11.5	27.8 (24.1-39.6)	212.1 ± 164.2	175.95 (120-206)
Kortizol 30' (nmol/L)	36.14 ± 10.9	32.1 (28.5-40.8)	254.6 ± 163.5	228.9 (166.9-288.7)
Kortizol 60' (nmol/L)	40.2 ± 11.2	43 (28.9-44.9)	278 ± 173.2	246.8 (170.8-385.6)
Kortizol 90' (nmol/L)	47.56 ± 18.0	43.5 (32-70.8)	310.3 ± 203.3	256.9 (174.1-502.2)
Kortizol 120' (nmol/L)	50.58 ± 19.6	46.9 (34-69)	327.2 ± 223.6	258.8 (178.1-516.2)
Kortizol 180' (nmol/L)	50.32 ± 17.5	48.3 (35.7-67.4)	354.9 ± 236.4	252 (213.1 - 589.9)



Grafikon 23. Vrednosti kortizola nakon stimulacije Pregnilom kod ispitanica sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima u odnosu na to da li je došlo do odgovora ili ne



Grafikon 24. Vrednosti kortizola nakon stimulacije Pregnilom kod ispitanica sa adrenalnim incidentalomima i (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola u odnosu na to da li je došlo do odgovora ili ne

5. DISKUSIJA

Fiziološko stanje hronično povišenih vrednosti gonadotropina posle 45. godine života a godinu dana nakon poslednje menstruacije zove se menopauza. S obzirom na to da su dosadašnje studije, kao što je jasno naznačeno u uvodu, pokazale da je za dejstvo LH na koru nadbubrega neophodan hronično povišen nivo LH našu kohortu ispitanica činile su žene u menopauzi.

Kontrolna grupa je bila uparena ne samo po starosti nego i prema ITM, trajanju menopauze i nivou LH. Na taj način su isključeni svi faktori koji su mogli da utiču na rezultate.

Kao i u dosadašnjim studijama ispitanice sa AI imale su značajno više vrednosti HOMA-IR u odnosu na zdravu kontrolu (Ivović *et al.*, 2013).

Unutar same grupe sa AI takođe nije bilo razlike u starosti, ITM, trajanju menopauze i nivou LH.

Gotovo sve ispitanice sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola, 45 od 48 (93.8%) su osim izostanka supresije kortizola u 1mg DST-u imale još najmanje jedan poremećaj u hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovini. Ovi poremećaji bili su nisko normalan ili suprimovan ACTH i/ili povišen nivo ponoćnog kortizola. Ovi parametri idu u prilog tome da kod ispitanica sa (M)ASK izostanak supresije kortizola u 1mg DST nije pitanje spoljnih faktora koji mogu dovesti do neadekvatne supresije kao što su gojaznost, metabolički sindrom i konkomitantno uzimanje lekova, već zaista odraz izmenjene hipotalamus-hipofiza-nadbubreg osovina kao posledice suptilnog viška kortizola tokom 24h. Takođe, ni jedna od ispitanica nije imala kliničku sliku hiperkorticizma niti povišen nivo jutarnjeg kortizola čime je isključen ispoljeni hiperkorticizam.

Kohortu ispitanica sa AI činilo je 40 ispitanica sa unilateralnim AI i 35 ispitanica sa bilateralnim uvećanjima. Incidentalomi su bili statistički značajno većih dimenzija u grupi bolesnica sa (M)ASK. Vassilatou i saradnici su takođe pokazali da je veličina tumora pozitivno povezana sa subkliničkim hiperkorticizmom (Vassilatou *et al.*, 2014).

Ispitanice sa bilateralnim uvećanjima imale su značajno veću prevalenciju (moguće) autonomne sekrecije kortizola što se slaže sa dosadašnjim studijama. Paschou i saradnici su u njihovoj studiji pokazali da pacijenti sa bilateralnim uvećanjima imaju veću prevalenciju subkliničkog hiperkorticizma u odnosu na pacijente sa unilateralnim adrenalnim incidentalomima (Paschou *et al.*, 2016).

Između ispitanica sa AI i zdrave kontrole nije bilo razlike u nivou gonadotropina niti traženih polnih hormona. U samoj grupi sa AI ispitanice sa (M)ASK su imale značajno nižu vrednost DHEAS.

Dobro je poznata činjenica da je DHEAS hormon koji linearno opada sa godinama. Takođe, nivo DHEAS je niži kod žena u menopauzi u odnosu na žene u

reproduktivnom periodu ne samo zbog razlike u godinama već i zbog toga što jedan DHEAS sekreduje jajnik. U menopauzi ta sekrecija izostaje. S obzirom na to da su ispitanice sa (M)ASK bile iste starosti kao i reproduktivnog statusa kao i ispitanice sa NAI, starenje i menopauza su isključeni kao faktori koji doprinose ovakvom rezultatu. Nekoliko studija do sada je utvrdilo da je DHEAS niži kod pacijenata sa subkliničkim hiperkorticizmom (Yener *et al.*, 2015) a neki od autora su ustanovili i granične vrednosti za DHEAS koji se mogu uzimati kao dijagnostički kriterijum za postojanje (moguće) autonomne sekrecije kortizola (Dennedy *et al.*, 2016).

Receptor za insulin i IGF1 se nalaze u normalnom tkivu nadbubrega ali i u tumorski izmenjenim adrenalnim masama. Efekti insulina se u korteksu nadbubrega ostvaruju putem oba receptora (Naaman *et al.*, 1989; Pillion *et al.*, 1989; Kamio *et al.*, 1991; Ilvesmäki *et al.*, 1993). Smatra se da insulin ima značajnu ulogu u nastanku i progresiji porasta tumora nadbubrega (Reincke *et al.*, 1996; Altieri *et al.*, 2016).

Povećana ekspresija receptora za insulin i IGF1 je zabeležena u adrenalnim adenomima (Kamio *et al.*, 1991). Takođe, iz kliničkog ugla, pokazano je da bolesnici sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima imaju značajno više vrednosti HOMA-IR u odnosu na zdravu kontrolu uparenu prema starosti i ITM (Ivović *et al.*, 2013). Ono što je posebno važno jeste i da studije ne beleže razliku u nivou HOMA-IR između NAI i bolesnika sa subkliničkim hiperkorticizmom (Ivović *et al.*, 2013) čemu idu u prilog i rezultati ovog istraživanja. Osim toga, u našoj studiji nije bilo korelacije između HOMA-IR i kortizola nakon 1mg DSTa što je u skladu sa nalazima prethodnih studija (Ivović *et al.*, 2013). Iako je uticaj kortizola na metabolizam glukoze dobro dokumentovan i očekivan, ovakav nalaz je moguće objasniti time da bolesnici sa (M)ASK ipak nemaju jasan, merljiv višak kortizola (normalan jutarnji kortizol) kao ni kliničku sliku hiperkorticizma.

Reincke i saradnici su prvi predložili da je hiperinsulinemija, odnosno insulinska rezistencija kod bolesnika sa AI zapravo i doprinoseći faktor porasta adrenalnih tumora. Autori objašnjavaju da insulin verovatno deluje sinergistički sa IGF1 i IGF2 što dovodi do insulinom-posredovane stimulacije nastanka adrenalnih tumora. Osim navedenog, autori prvi put ukazuju na sličnost i poredbe metabolički profil bolesnika sa adrenalnim incidentalomima sa bolesnicima sa sindromom policističnih jajnika (Reincke *et al.*, 1996).

Muscogiuri i saradnici su uz primenu euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa pokazali da je insulinska senzitivnost u inverznom odnosu sa veličinom adrenalnih tumora. Zapravo, pokazali su da što je bolesnik insulin rezistentniji

adrenalni incidentalom je veći. Iz toga su izveli zaključak da ovakav nalaz ide u prilog insulinom posredovanog porasta tumora nadbubrega (Muscogiuri *et al.*, 2011). Rezultati našeg ispitivanja idu u prilog tome i pokazuju direktnu korelaciju između HOMA-IR i veličine tumora nadbubrega kod nefunkcijskih adrenalnih incidentaloma ali i bolesnica sa mogućom autonomnom sekrecijom kortizola.

Yilmaz i saradnici su pokazali direktnu vezu između veličine tumora i 1mg DST kortizola kod nefunkcijskih adrenalnih incidentaloma. U našoj studiji to nije bio slučaj ali je bilo direktne povezanosti između veličine tumora i sekrecije kortizola kod bolesnica sa mogućom autonomnom sekrecijom kortizola (Yilmaz, Tütüncü and Şahin, 2009).

Na osnovu prethodno iznetoga, do sada diskutovani rezultati ukazuju na mogući kontinuum između insulina, veličine tumora i sekrecije kortizola. Ali, Altieri i saradnici zaključuju da osim hiperinsulinemije mora postojati još neki faktor koji doprinosi adrenalnoj tumorigenezi (Altieri *et al.*, 2016).

Prisustvo LH/hCG receptora je dokazano u adrenalnom korteksu ljudi kod fetusa i kod odraslih kao i u adrenokortikalnim tumorima (Pabon *et al.*, 1996; Lacroix, Hamet and Boutin, 1999; Bourdeau *et al.*, 2001).

1999. godine zabeležena je bolesnica sa Kušingovim sindromom koji se javio deset godina nakon menopauze a prethodno je tokom 4 trudnoće svaki put imala kliničku sliku hiperkorticizma sa facies lunata i centripetalnom gojaznošću. Kod ove bolesnice posle davanja LH došlo je do stimulacije sekrecije kortizola (Lacroix, Hamet and Boutin, 1999).

Bourdeau i saradnici su, 2001. godine, pokazali da kod pacijenata sa bilateralnom makronodularnom hiperplazijom postoji subklinička sekrecija kortizola i drugih steroida koja je modulirana aberantnom ekspresijom različitih receptora uključujući i LH (Bourdeau *et al.*, 2001).

Definitivna potvrda prisutva mRNK LH receptora u adrenalnom tkivu dva pacijenta sa LH stimulišućim Kušingovim sindromom objavljena je 2003. godine (Feelders *et al.*, 2003). Ova grupa autora je pokazala da je proizvodnja kortizola kod ovih pacijenata bila kontrolisana preko ekspresije LH receptora.

Brojni animalni modeli su pokazali da gonadektomisane životinje razvijaju adenome nadbubrega, hiperplaziju kao i adrenokortikalne karcinome (Kananen *et al.*, 1997; Rilianawati *et al.*, 1998, 2000; Doghman *et al.*, 2007). Takođe, u uslovima hronično povišenih nivoa LH kod transgenih miševa dolazi do povećane ekspresije LH receptora u kori nadbubrega i nastanka bilateralne adrenalne hiperplazije, policističnih jajnika i povećane proizvodnje kortizola (Rilianawati *et al.*, 1998; Kero *et al.*, 2000).

Funkcionalni odnos između nadbubrega i LH se može objasniti zajedničkim embriološkim poreklom nadbubrega i gonada iz urogenitalnog grebena (Morohashi, 1997). Osim u embriološkom poreklu sličnost ova dva sistema se ogleda i u regulaciji funkcije preko povratne veze hipotalamus-hipofiza kao i u sličnosti steroidogeneze (Bernichtein, Alevizaki and Huhtaniemi, 2008).

U kliničkom smislu nedavno je pokazana pozitivna korelacija između nivoa serumskog kortizola, kortizola u urinu i LH nivoa kod žena u menopauzi (Alevizaki *et al.*, 2006). Autori su zaključili da ovakvi rezultati ukazuju na to da je kora nadbubrega reaktivnija jer je izložena hronično povišenim nivoima LH. Međutim, Bernichtein i saradnici zaključuju da ako je zaista hronično povišen nivo LH potreban za nastanak adrenalnog tumora zašto onda svaka žena u menopauzi nema adrenalnim tumor?

Naša studija je prva koja je ispitivala povezanost između hronično povišenih nivoa LH sa parametrima osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubreg i HOMA-IR kod žena u menopauzi sa adrenalnim incidentalomima.

Odnos između LH i HOMA-IR kod zdravih žena u menopauzi do sada nije bio predmet velikog broja ispitivanja. Kod žena sa PCOS Pagan i saradnici nisu našli korelaciju između LH i HOMA-IR (Pagán *et al.*, 2006) što je bio slučaj i u našoj kontrolnoj grupi. Sa druge strane, Shoupe i saradnici su kod žena sa PCOS našli korelaciju između LH i bazalnih nivoa insulina i sugerisali da je hiperinsulinemija u vezi sa povišenim nivoima LH i androgena (Shoupe, Kumar and Lobo, 1983).

Pozitivna komunikacija i direktne interakcije između LH i insulinskih signalnih puteva su dokazani *in vivo* i *in vitro* u jajnicima pacova (Carvalho *et al.*, 2003). Istovremena infuzija LH i insulina dovela je do povećane fosforilacije JAK2, STAT-5b, IRS-1 i AKT u poređenju sa svakim od hormona ponaosob. Ovi rezultati su ukazali na to da je interkomunikacija dovela do povećane aktivnosti i LH i insulinskih signalnih puteva što je dovelo do pojačane steroidogeneze koja je inače pod kontrolom oba ova hormona (Carvalho *et al.*, 2003).

Rezultati naše studije pokazuju da su i LH i veličina tumora značajni prediktori HOMA-IR kod žena u menopauzi sa adrenalnim incidentalomom i (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola, što sugeriše da je interakcija između LH i insulina ta koja je ključni faktor u adrenalnoj tumorigenezi. Ovakav nalaz bi mogao da objasni zašto je među bolesnicima sa adrenalnim incidentalomima veći broj žena u odnosu na muškarce (Mantero *et al.*, 2000; Bourdeau *et al.*, 2001). I zaista, u našoj studiji od 492 ispitanika, 371 su bile žene (75%) a većina žena je bila u menopauzi sa svega 37 u reproduktivnom periodu (9.97%). Osim prethodno

iznesenih dokaza o učešću LH u adrenalnoj tumorigenezi direktna povezanost LH sa 1mg DST kortizolom kod bolesnica sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola sugeriraju na uticaj LH i na adrenalnu steroidogenezu. Tome u prilog ide i to da je od 75 menopauzalnih bolesnica sa adrenalnim incidentalomom samo 27 imalo adekvatnu supresiju kortizola nakon 1mg DST-a.

Dosadašnji rezultati ukazuju na povezanost hronično povišenih nivoa LH i adrenalne tumorigeneze. U cilju ispitivanja odgovora kortizola na akutnu stimulaciju kod 14 ispitanica sproveli smo test davanjem 10.000 Pregnyl amp intramuskularno. hCG se konvencionalno koristi u endokrinologiji kao zamena za LH zahvaljujući činjenici da imaju zajednički receptor. Bourdeau i saradnici su 2001. godine sproveli pregnilski test kod dve pacijentkinje sa bilateralnim adrenalnim incidentalomima i subkliničkim Kušingovim sindromom i dobijen je odgovor od 200% odnosno 250% u odnosu na nulti minut (Bourdeau *et al.*, 2001). Autori su zaključili da kod obe pacijentkinje postoji aberantna eksrepsija LH/HCG receptora. Potom su Feelders i saradnici, 2003. godine, primenili pregnilski test kod 2 pacijentkinje sa Kušingovim sindromom i bilateralnom adrenalnom hiperplazijom (Feelders *et al.*, 2003). Obe žene su imale pozitivan odgovor na stimulaciju sa skokom kortizola od 233% odnosno 144%. Nakon što su operisane isto je pokazano i in vitro kada su njihove adrenalne ćelije stimulisane sa hCG i dobijena je povećana proizvodnja kortizola. Dalje, na nivou receptora u adrenalnom tkivu ovih pacijentkinja dokazano je prisustvo mRNK LH. Ova studija je definitivno potvrdila prisustvo i aktivnost LH receptora u adrenalnim tkivima pacijentkinja sa Kušingovim sindromom i adrenalnim uvećanjima. Vassiliadi i saradnici su ispitivali odgovor na različite stimulse kod bilateralnih uvećanja nadbubrega ali nakon supresije deksametazonom (Vassiliadi *et al.*, 2011). Autori su objasnili da se na taj način isključuje mogućnost uticaja ACTH na vrednosti kortizola. Iz tog razloga u našem protokolu pregnilski test je učinjen tek nakon 1mg deksametazonskog prekonoćnog supresionog testa. Kao i u prethodnim studijama porast kortizola preko 25% u odnosu na nulti minut se smatrao pozitivnim odgovorom (Vassiliadi *et al.*, 2011). Od 14 ispitanica samo 3 nisu imale odgovor kortizola. Interesantno je da je odgovor kortizola postojao i kod ispitanica sa NAI i sa (M)ASK s tim što je odgovor kortizola u podgrupi sa (M)ASK bio jači. Takođe, odgovor je postojao nezavisno od unilateralnosti odnosno bilateralnosti uvećanja. Dosadašnje studije su potvrdile aktivnost LH/hCG receptora kod subkliničkog i kliničkog hiperkortizizma. Naši rezultati upućuju na to da je aktivnost LH/hCG receptora

prisutna i kod pacijentkinja sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima a da je njihov odgovor kortizola u odnosu na pacijentkinje sa (M)ASK bio niži. Veći odgovor kortizola na stimulaciju pregnilom kod ovih pacijentkinja direktno upućuje na učešće LH u steroidogenezi adrenalnih incidentaloma sa (M)ASK.

Do sada navedeni rezultati našeg ispitivanja sugerišu da je LH doprinoseći faktor koji zajedno sa hiperinsulinemijom dovodi do adrenalne tumorigeneze. Sa druge strane, možda je zapravo insulinska rezistencija odgovor na to, zašto neke žene razviju adrenalni tumor u uslovima hronično povišenih nivoa LH, odnosno u menopauzi?

Prikazani rezultati ovog istraživanja su u skladu sa dosadašnjim saznanjima:

- što je veći tumor veća je insulinska rezistencija (Muscoiuri *et al.*, 2011) i
- što je veći tumor veći je i 1mg DST kortizol (Vassilatou *et al.*, 2014).

Dodatno, pozitivna korelacija LH i 1mg DST kortizola kod bolesnica sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola sugeriše na uticaj LH i na steroidogenezu nadbubrega.

Do sada nam je poznato da LH i insulin komuniciraju i sarađuju u jajnicima, tkivu koje je istog embrionalnog porekla kao i nadbubreg. Da li je slično moguće i u nadbubregu? Odgovor na ovo pitanje bi mogla dati istraživanja koja bi proučavala interkomunikaciju između signalnih sistema LH i insulina u kulturi ćelija nadbubrega.

6. ZAKLJUČCI

1. Bolesnice sa adrenalnim incidentalomima, nefunkcijskim i onim sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola imaju veću insulinsku rezistenciju u odnosu na zdravu kontrolu iste starosti i indeksa telesne mase.
2. Bolesnice sa bilateralnim adrenalnim incidentalomima imaju veću prevalenciju (moguće) autonomne sekrecije kortizola u odnosu na bolesnice sa unilateralnim uvećanjima.
3. Bolesnice sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola imaju značajno nižu vrednost DHEAS u odnosu na bolesnice sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima.
4. Kod bolesnica sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola postoji značajna povezanost nivoa LH sa HOMA-IR.
5. Kod bolesnica sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima ne postoji značajna povezanost nivoa LH sa HOMA-IR.
6. Kod bolesnica sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola postoji značajna povezanost nivoa LH sa 1mg DST kortizola.
7. Veličina tumora je u direktnoj povezanosti sa HOMA-IR kod bolesnica sa (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola.
8. Veličina tumora nije u direktnoj povezanosti sa HOMA-IR kod bolesnica sa nefunkcijskim adrenalnim incidentalomima.
9. LH ne utiče na sekreciju aldosterona kod bolesnica sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega.
10. LH ne utiče na sekreciju DHEAS kod kod bolesnica sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega.

11. LH i veličina tumora su značajni prediktori HOMA-IR kod žena u menopauzi sa adrenalnim incidentalomima i (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola.
12. Bolesnice sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega imaju povećanu sekreciju kortizola nakon pregnilskog testa
13. Bolesnice sa slučajno otkrivenim tumorom nadbubrega i (mogućom) autonomnom sekrecijom kortizola imaju jaču sekreciju kortizola nakon pregnilskog testa u odnosu na bolesnice sa nefunkcijskim uvećanjima.
14. LH utiče na sekreciju kortizola kod bolesnica sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega
15. Odgovor kortizola na pregnilski test je prisutan kako kod ispitanica sa unilateralnim tako i sa bilateralnim uvećanjima.
16. a) U smislu terapijskog pristupa, rezultati ovog istraživanja otvaraju pitanje da li bolesnicama sa diskretnom sekrecijom kortizola treba dati insulinski senzitivajzer
17. b) Drugo pitanje bilo bi uvođenje estroprogestagena sa ulaskom u menopauzu.
18. Na osnovu navedenog, kada se razmišlja o terapijskom pristupu lečenja i praćenja adrenalnih incidentaloma, treba imati u vidu klinički značaj sinergizma LH i insulinske rezistencije kao mogućeg okidača nastanka adrenalnih tumora, njihovog porasta kao i sekrecije kortizola.

7. LITERATURA

Abecassls, M., McLoughlin, M. J., Langer, B. and Kudlow, J. E. (2018) 'Serendipitous adrenal masses: Prevalence, significance, and management', *The American Journal of Surgery*. Elsevier, 149(6), pp. 783–788.

Addison, T. (1855) *On the constitutional and local effects of disease of the suprarenal capsules*. London: Highley, S.

Alevizaki, M., Saltiki, K., Mantzou, E., Anastasiou, E. and Huhtaniemi, I. (2006) 'The adrenal gland may be a target of LH action in postmenopausal women', *European Journal of Endocrinology*, 154(6), pp. 875–881.

Almeida, M. Q., Fragoso, M. C. B. V., Lotfi, C. F. P., Santos, M. G., Nishi, M. Y., Costa, M. H. S., Lerario, A. M., Maciel, C. C., Mattos, G. E., Jorge, A. A. L., Mendonca, B. B. and Latronico, A. C. (2008) 'Expression of Insulin-Like Growth Factor-II and Its Receptor in Pediatric and Adult Adrenocortical Tumors', *J Clin Endocrinol Metab*, 93(9), pp. 3524–3531.

Altieri, B., Tirabassi, G., Casa, S. Della, Ronchi, C. L., Balercia, G., Orio, F., Pontecorvi, A., Colao, A. and Muscogiuri, G. (2016) 'Adrenocortical tumors and insulin resistance: What is the first step?', *International journal of cancer*, 138(12), pp. 2785–94.

American Diabetes Association, A. D. (2009) 'Standards of medical care in diabetes--2009', *Diabetes care*. American Diabetes Association, 32 Suppl 1 (Supplement 1), pp. S13-61.

Angeli, A., Osella, G. ., Ali, A. and Terzolo, M. (1997) 'Adrenal incidentaloma: an overview of clinical and epidemiological data from the National Italian Study Group. itle', *Horm Res*, 47((4-6)), pp. 279–83.

Apaja, P. M., Aatsinki, J. T., Rajaniemi, H. J. and Petäjä-Repo, U. E. (2005) 'Expression of the mature luteinizing hormone receptor in rodent urogenital and adrenal tissues is developmentally regulated at a posttranslational level', *Endocrinology*, 146(8), pp. 3224–3232.

Assié, G., Bahurel, H., Coste, J., Silvera, S., Kujas, M., Dugué, M. A., Karray, F., Dousset, B., Bertherat, J., Legmann, P. and Bertagna, X. (2007) 'Corticotroph tumor progression after adrenalectomy in Cushing's disease: A reappraisal of Nelson's syndrome', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(1), pp. 172–179.

Azziz, R., Ehrmann, D., Legro, R. S., Whitcomb, R. W., Hanley, R., Fereshetian, A. G., O'Keefe, M., Ghazzi, M. N. and PCOS/Troglitazone Study Group (2001) 'Troglitazone Improves Ovulation and Hirsutism in the Polycystic Ovary Syndrome: A Multicenter, Double Blind, Placebo-Controlled Trial 1', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(4), pp. 1626–1632.

Banaszewska, B., Spaczyński, R. Z., Pelesz, M. and Pawelczyk, L. (2003) 'Incidence of elevated LH/FSH ratio in polycystic ovary syndrome women with normo- and hyperinsulinemia', *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku (1995)*, 48, pp. 131–4.

Barzon, L., Sonino, N., Fallo, F., Palu, G. and Boscaro, M. (2003) 'Prevalence and natural history of adrenal incidentalomas', *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 149(4), pp. 273–85.

Baxter, R. C., Bryson, J. M. and Turtle, J. R. (1981) 'The effect of fasting on liver receptors for prolactin and growth hormone', *Metabolism*, 30(11), pp. 1086–1090.

Belldegrun, A., Hussain, S., Seltzer, S., Loughlin, K., Gittes, R. and Richie, J. (1986) 'Incidentally discovered mass of the adrenal gland', *Surg Gynecol Obstet.*, 163(3), pp. 203–8.

Bernichtein, S., Alevizaki, M. and Huhtaniemi, I. (2008) 'Is the adrenal cortex a target for gonadotropins?', *Trends in Endocrinology and Metabolism*, pp. 231–238.

Bernichtein, S., Petretto, E., Jamieson, S., Goel, A., Aitman, T. J., Mangion, J. M. and Huhtaniemi, I. T. (2008) 'Adrenal gland tumorigenesis after gonadectomy in mice is a complex genetic trait driven by epistatic loci', *Endocrinology*, 149(2), pp. 651–61.

Bernini, G. P., Moretti, A., Oriandini, C., Bardini, M., Taurino, C. and Salvetti, A. (2005) 'Long-term morphological and hormonal follow-up in a single unit on 115 patients with adrenal incidentalomas', *British Journal of Cancer*. Nature Publishing Group, 92(6), pp. 1104–1109.

Beuschlein, F., Looyenga, B. D., Bleasdale, S. E., Mutch, C., Bavers, D. L., Parlow, A. F., Nilson, J. H. and Hammer, G. D. (2003) 'Activin induces x-zone apoptosis that inhibits luteinizing hormone-dependent adrenocortical tumor formation in inhibin-deficient mice.', *Molecular and cellular biology*, 23(11), pp. 3951–3964.

Bielinska, M., Genova, E., Boime, I., Parviainen, H., Kiiveri, S., Leppäluoto, J., Rahman, N., Heikinheimo, M. and Wilson, D. (2005) 'Gonadotropin-Induced Adrenocortical Neoplasia in NU/J Nude Mice', *Endocrinology*, 146(9).

Bielinska, M., Parviainen, H., Porter-Tinge, S. B., Kiiveri, S., Genova, E., Rahman, N., Huhtaniemi, I. T., Muglia, L. J., Heikinheimo, M. and Wilson, D. B. (2003) 'Mouse Strain Susceptibility to Gonadectomy-Induced Adrenocortical Tumor Formation Correlates with the Expression of GATA-4 and Luteinizing Hormone Receptor', *Endocrinology*, 144(9), pp. 4123–4133.

Bittner, J. and Huseby, R. (1951) 'Differences in Adrenal Responsiveness to Post-castrational Alteration as Evidenced by Transplanted Adrenal Tissue*', *Cancer Res.*

Bourdeau, I., D'Amour, P., Hamet, P., Boutin, J. M. and Lacroix, A. (2001) 'Aberrant membrane hormone receptors in incidentally discovered bilateral macronodular adrenal hyperplasia with subclinical Cushing's syndrome.', *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(11), pp. 5534–40.

Bovio, S., Cataldi, A., Reimondo, G., Sperone, P., Novello, S., Berruti, A., Borasio, P., Fava, C., Dogliotti, L., Scagliotti, G. V, Angeli, A. and Terzolo, M. (2006) 'Prevalence of adrenal incidentaloma in a contemporary computerized tomography series.', *Journal of endocrinological investigation*, 29(4), pp. 298–302.

Bugalho, M. J. M., Li, X., Rao, C. V, Soares, J. and Sobrinho, L. G. (2000) 'Presence of a Gs α mutation in an adrenal tumor expressing LH/hCG receptors and clinically associated with Cushing's syndrome', *Gynecological Endocrinology*, 14(1), pp. 50–54.

Bülow, B., Jansson, S., Juhlin, C., Steen, L., Thorén, M., Wahrenberg, H., Valdemarsson, S., Wängberg, B., Ahrén, B. and Tumours, on behalf of the S. R. C. S. G. of E. A. (2006) 'Adrenal incidentaloma - follow-up results from a Swedish prospective study.', *European journal of endocrinology*. European Society of Endocrinology, 154(3), pp. 419–23.

Caro, J. F., Sinha, M. K., Raju, S. M., Ittoop, O., Pories, W. J., Flickinger, E. G., Meelheim, D. and Dohm, G. L. (1987) 'Insulin receptor kinase in human skeletal muscle from obese subjects with and without noninsulin dependent diabetes.', *The Journal of clinical investigation*, 79(5), pp. 1330–7.

Carvalho, C. R. O., Carvalheira, J. B. C., Lima, M. H. M., Zimmerman, S. F., Caperuto, L. C., Amanso, A., Gasparetti, A. L., Meneghetti, V., Zimmerman, L. F., Velloso, L. A. and Saad, M. J. A. (2003) 'Novel signal transduction pathway for luteinizing hormone and its interaction with insulin: activation of Janus kinase/signal transducer and activator of transcription and phosphoinositol 3-kinase/Akt pathways.', *Endocrinology*, 144(2), pp. 638–47.

Cawood, T. J., Hunt, P. J., O'Shea, D., Cole, D. and Soule, S. (2009) 'Recommended evaluation of adrenal incidentalomas is costly, has high false-positive rates and confers a risk of fatal cancer that is similar to the risk of the adrenal lesion becoming malignant; time for a rethink?', *European Journal of Endocrinology*, 161(4), pp. 513–527.

Chang, R. J., Mandel, F. P., Wolfsen, A. R. and Judd, H. L. (1983) 'Circulating levels of plasma adrenocorticotropin in polycystic ovary disease', *Obstetrical and Gynecological Survey*, 38(2), pp. 108–109.

Choi, J. and Smitz, J. (2014) 'Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Origins of difference', *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier, 383(1–2), pp. 203–213. doi: 10.1016/J.MCE.2013.12.009.

Cole, L. (2010) 'Biological functions of hCG and hCG-related molecules.', *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. BioMed Central, 8, p. 102. doi: 10.1186/1477-7827-8-102.

Conn, J. W. (1955) 'Primary aldosteronism, a new clinical syndrome.', *J. Lab. Clin. Med.*, 45(3).

Conover, C. A., Lee, P. D., Kanaley, J. A., Clarkson, J. T. and Jensen, M. D. (1992) 'Insulin regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 in obese and nonobese humans.', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 74(6), pp. 1355–1360.

Cushing, H. (1912) 'Clinical states produced by disorders of the hypophysis cerebri', in *The pituitary body and its disorders*. Philadelphia: JB Lippincott.

Di Dalmazi, G., Pasquali, R., Beuschlein, F. and Reincke, M. (2015) 'Subclinical hypercortisolism: a state, a syndrome, or a disease?', *European Journal of Endocrinology*, 173(4), pp. M61–M71. doi: 10.1530/EJE-15-0272.

Dennedy, M. C., Annamalai, A. K., Prankerd Smith, O., Freeman, N., Vengopal, K., Graggaber, J., Koulouri, O., Powlson, A. S., Shaw, A., Halsall, D. J. and Gurnell, M. (2016) 'Low DHEAS: A Sensitive and Specific Test for Detection of Subclinical Hypercortisolism in Adrenal Incidentalomas', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(3), p. jc.2016-2718.

Doghman, M., Karpova, T., Rodrigues, G. A., Arhatte, M., De Moura, J., Cavalli, L. R., Virolle, V., Barbry, P., Zambetti, G. P., Figueiredo, B. C., Heckert, L. L. and Lalli, E. (2007) 'Increased Steroidogenic Factor-1 Dosage Triggers Adrenocortical Cell Proliferation and Cancer', *Molecular Endocrinology*, 21(12), pp. 2968–2987.

Donovan, B. and ter Haar, M. (1977) 'Effects of luteinizing hormone releasing hormone on plasma follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone levels in the ferret.', *The Journal of endocrinology*, 73(1), pp. 37–52.

Drelon, C., Berthon, A. and Val, P. (2013) 'Adrenocortical cancer and IGF2: Is the game over or our experimental models limited?', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, pp. 505–507.

Dunaif, A., Segal, K. R., Futterweit, W. and Dobrjansky, A. (1989) 'Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome.', *Diabetes*, 38(9), pp. 1165–74.

Dunnick, N. R. (1990) 'Hanson lecture. Adrenal imaging: current status.', *American Journal of Roentgenology*, 154(5), pp. 927–936.

Ehrhart-Bornstein, M., Hinson, J. P., Bornstein, S. R., Scherbaum, W. A. and Vinson, G. P. (1998) 'Intraadrenal Interactions in the Regulation of Adrenocortical Steroidogenesis', *Endocrine Reviews*, 19(2), pp. 101–143.

Ermetici, F., Dall'Asta, C., Malavazos, A. E., Coman, C., Morricone, L., Montericcio, V. and Ambrosi, B. (2008) 'Echocardiographic alterations in patients with non-functioning adrenal incidentaloma', *Journal of Endocrinological Investigation*, 31(6), pp. 573–577.

Eustachius, B. (1563) *Tabulae anatomicae, Chapter VL*. Venice: V. V. Lucchino.

Fassnacht, M. and Allolio, B. (2009) 'Clinical management of adrenocortical carcinoma', *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 23(2), pp. 273–289.

Fassnacht, M., Arlt, W., Bancos, I., Dralle, H., Newell-Price, J., Sahdev, A., Tabarin, A., Terzolo, M., Tsagarakis, S. and Dekkers, O. M. (2016) 'Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors', *European Journal of Endocrinology*, 175(2), pp. G1–G34.

Feelders, R. A., Lamberts, S. W. J., Hofland, L. J., Van Koetsveld, P. M., Verhoef-Post, M., Themmen, A. P. N., De Jong, F. H., Bonjer, H. J., Clark, A. J., Van Der Lely, A. J. and De Herder, W. W. (2003) 'Luteinizing hormone (LH)-responsive cushing's syndrome: The demonstration of LH receptor messenger ribonucleic acid in hyperplastic adrenal cells, which respond to chorionic gonadotropin and serotonin agonists in vitro', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(1), pp. 230–237.

Fernández-Real, J. M., Engel, W. R., Simó, R., Salinas, I. and Webb, S. M. (1998) 'Study of glucose tolerance in consecutive patients harbouring incidental adrenal tumours. Study Group of Incidental Adrenal Adenoma', *Clinical endocrinology*, 49(1), pp. 53–61.

Ferre, M., Lawrence, C. and Jaffe, R. (1978) 'Role of hCG in Regulation of the Fetal Zone of the Human Fetal Adrenal Gland*', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 46(5), pp. 834–837.

Fotherby, K. (1984) *Endocrinology of Menstrual Cycle and Pregnancy, Biochemistry of Steroid Hormones*. Blackwell Scientific.

Fottner, C., Engelhardt, D. and Weber, M. M. (1998) 'Regulation of steroidogenesis by insulin-like growth factors (IGFs) in adult human adrenocortical cells: IGF-I and, more potently, IGF-II preferentially enhance androgen biosynthesis through interaction with the IGF-I receptor and IGF-binding proteins', *Journal of Endocrinology*, 158(3), pp. 409–417.

Francis, I. R., Smid, A., Gross, M. D., Shapiro, B., Naylor, B. and Glazer, G. M. (1988) 'Adrenal masses in oncologic patients: functional and morphologic evaluation.', *Radiology*, 166(2), pp. 353–356.

Fränkel, F. (1886) 'Ein Fall von doppelseitigem, völlig latent verlaufenen Nebennierentumor und gleichzeitiger Nephritis mit Veränderungen am Circulationsapparat und Retinitis', *Arch Pathol Anat Physiol Klin Med*, (103), pp. 244–263.

Franks, S. (1995) 'Polycystic ovary syndrome.', *The New England journal of medicine*, 333(13), pp. 853–61.

Giordano, T. J., Kuick, R., Else, T., Gauger, P. G., Vinco, M., Bauersfeld, J., Sanders, D., Thomas, D. G., Doherty, G. and Hammer, G. (2009) 'Molecular classification and prognostication of adrenocortical tumors by transcriptome profiling', *Clinical Cancer Research*, 15(2), pp. 668–676.

Godoy-Matos, A. F., Vieira, A. R., Moreira, R. O., Coutinho, W. F., Carraro, L. M., Moreira, D. M., Pasquali, R. and Meirelles, R. M. R. (2006) 'The potential role of increased adrenal volume in the pathophysiology of obesity-related Type 2 diabetes', *Journal of Endocrinological Investigation*, 29(2), pp. 159–163.

Goodarzi, M. O., Dawson, D. W., Li, X., Lei, Z., Shintaku, P., Rao, C. V. and Van Herle, A. J. (2003) 'Virilization in bilateral macronodular adrenal hyperplasia controlled by luteinizing hormone', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(1), pp. 73–77.

Groot De, L., Chrousos, G. and Dungan, K. (2017) *Endotext*, South Dartmouth (MA): MDText.com.

Groussin, L., Bonardel, G., Silvéra, S., Tissier, F., Coste, J., Abiven, G., Libé, R., Bienvenu, M., Alberini, J.-L., Salenave, S., Bouchard, P., Bertherat, J., Dousset, B., Legmann, P., Richard, B., Foehrenbach, H., Bertagna, X. and Tenenbaum, F. (2009) '18F-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the diagnosis of adrenocortical tumors: A prospective study in 77 operated patients', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(5), pp. 1713–1722.

Grumbach, M. M., Biller, B. M. K., Braunstein, G. D., Campbell, K. K., Aidan Carney, J., Godley, P. A., Harris, E. L., Lee, J. K. T., Oertel, Y. C., Posner, M. C., Schlechte, J. A., Wieand, S. and Marciel, K. (2003) 'Management of the clinically inapparent adrenal mass ("incidentaloma")', *Annals of Internal Medicine*, 138(5), pp. 424–429.

Henley, D. J., van Heerden, J. A., Grant, C. S., Carney, J. A. and Carpenter, P. C. (1983) 'Adrenal cortical carcinoma--a continuing challenge', *Surgery*, 94(0039–6060; 6), pp. 926–931.

Hennings, J., Hellman, P., Ahlström, H. and Sundin, A. (2009) 'Computed tomography, magnetic resonance imaging and 11C-metomidate positron emission tomography for evaluation of adrenal incidentalomas', *European Journal of Radiology*, 69(2), pp. 314–323.

Herman Chui, M., Özbey, N. C., Ezzat, S., Kapran, Y., Erbil, Y., Asa, S. L. and Asa, S. L. (2009) 'Case Report: Adrenal LH/hCG Receptor Overexpression and Gene Amplification Causing Pregnancy-Induced Cushing's Syndrome', *Endocrine Pathology*, 20(4), pp. 256–261.

Herrera, M., Grant, C., van Heerden, J., Sheedy, P. and Ilstrup, D. (1991) 'Incidentally discovered adrenal tumors: an institutional perspective', *Surgery*, 110(6), pp. 1014–21.

Hess, K. R., Abbruzzese, M. C., Lenzi, R., Raber, M. N. and Abbruzzese, J. L. (1999) 'Classification and Regression Tree Analysis of 1000 Consecutive Patients with Unknown Primary Carcinoma', *Clinical Cancer Research*, 5(11), p. 3403 LP-3410.

Heuson, J. C. and Legros, N. (1972) 'Influence of Insulin Deprivation on Growth of the 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-induced Mammary Carcinoma in Rats Subjected to Alloxan Diabetes and Food Restriction', *Cancer Research*, 32(2), pp. 226–232.

Hiroi, N., Sue, M., Yoshihara, A., Ichijo, T., Yoshida-Hiroi, M., Higa, M. and Yoshino, G. (2010) 'Prevalence of adrenal masses in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus', *Diabetology & metabolic syndrome*, 2, p. 71.

Hofmann, G. E., Rao, C. V, Barrows, G. H., Schultz, G. S. and Sanfilippo, J. S. (1984) 'Binding sites for epidermal growth factor in human uterine tissues and leiomyomas', *J Clin Endocrinol Metab*, 58(5), pp. 880–884.

Holgert, H., Dagerlind, Å. and Hökfelt, T. (1998) 'Immunohistochemical Characterization of the Peptidergic Innervation of the Rat Adrenal Gland', *Hormone and Metabolic Research*, 30(06/07), pp. 315–322.

Holmes, R. (1961) 'The adrenal glands of the ferret, *Mustela putorius*.', *Journal of anatomy*. Wiley-Blackwell, 95(Pt 3), pp. 325–36.

Ilvesmäki, V., Kahri, A. I., Miettinen, P. J. and Voutilainen, R. (1993) 'Insulin-like growth factors (IGFs) and their receptors in adrenal tumors: high IGF-II expression in functional adrenocortical carcinomas', *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 77(3), pp. 852–8.

Ish-Shalom, D., Guri, D., Christoffersen, C., Urso, D., de Meyts, B. and Naor, D. (1995) 'Mitogenic Potential of Insulin on Lymphoma Cells Lacking IGF-1 Receptor', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 766(1), pp. 409–414.

Ivović, M., Marina, L. V., Vujović, S., Tančić-Gajić, M., Stojanović, M., Radonjić, N. V., Gajić, M., Soldatović, I. and Micić, D. (2013) 'Nondiabetic patients with either subclinical Cushing's or nonfunctional adrenal incidentalomas have lower insulin sensitivity than healthy controls: Clinical implications', *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62(6).

Jabara, S., Christenson, L. K., Wang, C. Y., McAllister, J. M., Javitt, N. B., Dunaif, A. and Strauss, J. F. (2003) 'Stromal Cells of the Human Postmenopausal Ovary Display a Distinctive Biochemical and Molecular Phenotype', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(1), pp. 484–492.

Kaaijk, E. M., Sasano, H., Suzuki, T., Beek, J. F. and van Der Veen, F. (2000) 'Distribution of steroidogenic enzymes involved in androgen synthesis in polycystic ovaries: an immunohistochemical study,' *Molecular human reproduction*, 6(5), pp. 443–7.

Kamio, T., Shigematsu, K., Kawai, K. and Tsuchiyama, H. (1991) 'Immunoreactivity and receptor expression of insulinlike growth factor I and insulin in human adrenal tumors. An immunohistochemical study of 94 cases,' *The American journal of pathology*, 138(1), pp. 83–91.

Kananen, K., Rilianawati, Paukku, T., Markkula, M., Rainio, E. M. and Huhtanemi, I. (1997) 'Suppression of gonadotropins inhibits gonadal tumorigenesis in mice transgenic for the mouse inhibin alpha-subunit promoter/simian virus 40 T-antigen fusion gene,' *Endocrinology*, 138(8), pp. 3521–3531.

Kataoka, Y., Ikehara, Y. and Hattori, T. (1996) 'Cell proliferation and renewal of mouse adrenal cortex,' *Journal of anatomy*, 188 (Pt 2, pp. 375–81.

Keegan, C. E. and Hammer, G. D. (2002) 'Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex,' *Trends in Endocrinology and Metabolism*, pp. 200–208.

Kero, J., Poutanen, M., Zhang, F. P., Rahman, N., McNicol, A. M., Nilson, J. H., Keri, R. A. and Huhtaniemi, I. T. (2000) 'Elevated luteinizing hormone induces expression of its receptor and promotes steroidogenesis in the adrenal cortex,' *The Journal of clinical investigation*, 105(5), pp. 633–41.

Kloos, R., Fross, D., Milton, D., Francis, I., Korobkin, M. and Shapiro, B. (1995) 'Incidentally Discovered Adrenal Masses,' *Endocrine Reviews*, 16(4), pp. 460–484.

Kölliker, A. (1852) *Handbuch der Braunschweig Gewebelehre der Menschen*. Leipzig: Engelmann.

Kramer, R. E., Buster, J. E. and Andersen, R. N. (1990) 'Differential modulation of ACTH-stimulated cortisol and androstenedione secretion by insulin,' *Journal of steroid biochemistry*, 36(1–2), pp. 33–42.

L'Allemand, D., Penhoat, A., Blum, W. and Saez, J. M. (1998) 'Is there a local IGF-system in human adrenocortical cells?', in *Molecular and Cellular Endocrinology*, pp. 169–173.

L'Allemand, D., Penhoat, A., Lebrethon, M. C., Ardèvol, R., Baehr, V., Oelkers, W. and Saez, J. M. (1996) 'Insulin-like growth factors enhance steroidogenic enzyme and corticotropin receptor messenger ribonucleic acid levels and corticotropin steroidogenic responsiveness in cultured human adrenocortical cells.', *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81(11), pp. 3892–3897.

Lacroix, A., Hamet, P. and Boutin, J. M. (1999) 'Leuprolide acetate therapy in luteinizing hormone--dependent Cushing's syndrome.', *The New England journal of medicine*, 341(21), pp. 1577–81.

Lam, K. and Lo, C. (2002) 'Metastatic tumours of the adrenal glands: a 30-year experience in a teaching hospital', *Clinical Endocrinology*, 56(1), pp. 95–101.

Lanzone, A., Fulghesu, A. M., Guido, M., Fortini, A., Caruso, A. and Mancuso, S. (1992) 'Differential androgen response to adrenocorticotrophic hormone stimulation in polycystic ovarian syndrome: relationship with insulin secretion.', *Fertility and sterility*, 58(2), pp. 296–301.

Lee, J. E., Evans, D. B., Hickey, R. C., Sherman, S. I., Gagel, R. F., Abbruzzese, M. C. and Abbruzzese, J. L. (2018) 'Unknown primary cancer presenting as an adrenal mass: Frequency and implications for diagnostic evaluation of adrenal incidentalomas', *Surgery*, 124(6), pp. 1115–1122.

Legro, R. S., Kinselmann, A. R., Dodson, W. C. and Dunaif, A. (1999) 'Prevalence and Predictors of Risk for Type 2 Diabetes Mellitus and Impaired Glucose Tolerance in Polycystic Ovary Syndrome: A Prospective, Controlled Study in 254 Affected Women 1', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(1), pp. 165–169.

Lenard, A. (1951) 'The history of the research of the adrenals; 1563-1900.', *J Hist Med Allied Sci.*, 6(4), pp. 496–505.

Leung, K.-C., Doyle, N., Ballesteros, M., Waters, M. J. and Ho, K. K. Y. (2000) 'Insulin Regulation of Human Hepatic Growth Hormone Receptors: Divergent Effects on

Biosynthesis and Surface Translocation', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(12), pp. 4712–4720.

Li, X., Nokkala, E., Yan, W., Streng, T., Saarinen, N., Wärrri, A., Huhtaniemi, I., Santti, R., Mäkelä, S. and Poutanen, M. (2001) 'Altered structure and function of reproductive organs in transgenic male mice overexpressing human aromatase', *Endocrinology*, 142(6), pp. 2435–2442.

Libè, R., Dall'Asta, C., Barbetta, L., Baccarelli, A., Beck-Peccoz, P. and Ambrosi, B. (2002) 'Long-term follow-up study of patients with adrenal incidentalomas.', *European journal of endocrinology*, 147(4), pp. 489–94.

Liddle, G. W. (1981) 'The Adrenals', in *Textbook of Endocrinology*. 6th edn. Philadelphia: W.B. Saunders Co, pp. 249–290.

Liu, L., Jaffe, R., Borowski, G. D. and Rose, L. I. (1983) 'Exacerbation of Cushing's disease during pregnancy', *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 145(1), pp. 110–111.

Lonsdale, H. (1868) *Anatomical Memoirs of John Goodsir*. Edited by W. Turner. Edinbrugh.

Looyenga, B. and Hammer, G. (2006) 'Origin and Identity of Adrenocortical Tumors in Inhibin Knockout Mice: Implications for Cellular Plasticity in the Adrenal Cortex', *Molecular Endocrinology*, 20(11), pp. 2848–2863.

Mantero, F., Terzolo, M., Arnaldi, G., Osella, G., Masini, A. M., Ali, A., Giovagnetti, M., Opocher, G. and Angeli, A. (2000) 'A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study Group on Adrenal Tumors of the Italian Society of Endocrinology', *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 85(2), pp. 637–44.

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F. and Turner, R. C. (1985) 'Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.', *Diabetologia*, 28(7), pp. 412–9.

Matzuk, M. M., Finegold, M. J., Mather, J. P., Krummen, L., Lu, H. and Bradley, A. (1994) 'Development of cancer cachexia-like syndrome and adrenal tumors in inhibin-deficient mice.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(19), pp. 8817–21.

Mazzuco, T. L., Chabre, O., Sturm, N., Feige, J. J. and Thomas, M. (2006) 'Ectopic expression of the gastric inhibitory polypeptide receptor gene is a sufficient genetic event to induce benign adrenocortical tumor in a xenotransplantation model', *Endocrinology*, 147(2), pp. 782–790.

Mijac, M., Draganic, V. and Radonjic, V. (2008) 'Abdomen i karlica', in *Anatomija coveka*. 4th edn. Beograd: Savremena Administracija.

Mircescu, H., Jilwan, J., N'Diaye, N., Bourdeau, I., Tremblay, J., Hamet, P. and Lacroix, A. (2000) 'Are Ectopic or Abnormal Membrane Hormone Receptors Frequently Present in Adrenal Cushing's Syndrome?', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(10), pp. 3531–3536.

Mitani, F., Mukai, K., Miyamoto, H., Suematsu, M. and Ishimura, Y. (2003) 'The undifferentiated cell zone is a stem cell zone in adult rat adrenal cortex', *Biochimica et biophysica acta*, 1619(3), pp. 317–324.

Morelli, V., Donadio, F., Eller-Vainicher, C., Cirello, V., Olgiati, L., Savoca, C., Cairoli, E., Salcuni, A., Beck-Peccoz, P. and I. C. (2010) 'Role of glucocorticoid receptor polymorphism in adrenal incidentalomas', *European Journal of Clinical Investigation*, 40(9), pp. 803–811.

Morelli, V., Masserini, B., Salcuni, A. S., Eller-Vainicher, C., Savoca, C., Viti, R., Coletti, F., Guglielmi, G., Battista, C., Iorio, L., Beck-Peccoz, P., Ambrosi, B., Arosio, M., Scillitani, A. and Chiodini, I. (2010) 'Subclinical hypercortisolism: Correlation between biochemical diagnostic criteria and clinical aspects', *Clinical Endocrinology*, 73(2), pp. 161–166.

Morohashi, K. (1997) 'The ontogenesis of the steroidogenic tissues.', *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*, 2(Beato 1989), pp. 95–106.

Mulatero, P., Rabbia, F., Milan, A., Paglieri, C., Morello, F., Chiandussi, L. and Veglio, F. (2002) 'Drug effects on aldosterone/plasma renin activity ratio in primary aldosteronism.', *Hypertension*, 40(6), pp. 897–902.

Muscogiuri, G., Sorice, G. P., Priolella, A., Mezza, T., Cipolla, C., Salomone, E., Giaccari, A., Pontecorvi, A. and Della Casa, S. (2011) 'The size of adrenal incidentalomas correlates with insulin resistance. Is there a cause-effect relationship?', *Clinical Endocrinology*, 74(3), pp. 300–305.

Naaman, E., Chatelain, P., Saez, J. M. and Durand, P. (1989) 'In vitro effect of insulin and insulin-like growth factor-I on cell multiplication and adrenocorticotropin responsiveness of fetal adrenal cells.', *Biology of reproduction*, 40(3), pp. 570–7.

Nagel, N. (1836) 'Ueber die Structur der Nevrnieren', in *Arch Anat Physiol Wissen*. Berlin: Vering von G. Eidiber.

O'Shaughnessy, P. J., Fleming, L. M., Jackson, G., Hochgeschwender, U., Reed, P. and Baker, P. J. (2003) 'Adrenocorticotropin hormone directly stimulates testosterone production by the fetal and neonatal mouse testis', *Endocrinology*, 144(8), pp. 3279–3284.

Oliver, G. and Schafer, E. (1895) 'The physiological effects of extracts of the suprarenal capsules', *J Physiol*, 18, pp. 230–76.

Pabon, J. E., Li, X., Lei, Z. M., Sanfilippo, J. S., Yussman, M. A. and Rao, C. V. (1996) 'Novel presence of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors in human adrenal glands', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81(6), pp. 2397–2400.

Pagán, Y. L., Srouji, S. S., Jimenez, Y., Emerson, A., Gill, S. and Hall, J. E. (2006) 'Inverse Relationship between Luteinizing Hormone and Body Mass Index in Polycystic Ovarian Syndrome: Investigation of Hypothalamic and Pituitary Contributions', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(4), pp. 1309–1316.

Paschou, S. A., Kandaraki, E., Dimitropoulou, F., Goulis, D. G. and Vryonidou, A. (2016) 'Subclinical Cushing's syndrome in patients with bilateral compared to unilateral adrenal incidentalomas: a systematic review and meta-analysis', *Endocrine*, 51(2), pp. 225–235. doi: 10.1007/s12020-015-0776-6.

Peña, C. S., Boland, G. W., Hahn, P. F., Lee, M. J. and Mueller, P. R. (2000) 'Characterization of indeterminate (lipid-poor) adrenal masses: use of washout characteristics at contrast-enhanced CT', *Radiology*, 217, pp. 798–802.

Penhoat, A., Ouali, R. and Viard, I. (1996) 'Regulation of primary response and specific genes in adrenal cells by peptide hormones and growth factors', *Steroids*, 61, p. 176–83.

Piccolomini, A. (1568) *Anatomicae praelectiones explicantes mirificam corporis humani fabricam*. Rome: B. Bonfadinus.

Pillion, D. J., Arnold, P., Yang, M., Stockard, C. R. and Grizzle, W. E. (1989) 'Receptors for insulin and insulin-like growth factor-I in the human adrenal gland', *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Academic Press, 165(1), pp. 204–211.

Porter R, K. J. (ed.) (2011) *The Merck manual of diagnosis and therapy*. Whitehouse Station, NJ: Merck Sharp & Dohme Corp.

Rahman, N. A., Kiiveri, S., Siltanen, S., Levallet, J., Kero, J., Lensu, T., Wilson, D. B., Heikinheimo, M. T. and Huhtaniemi, I. T. (2001) 'Adrenocortical tumorigenesis in transgenic mice: the role of luteinizing hormone receptor and transcription factors GATA-4 and GATA-61', *Reproductive biology*, 1(1), pp. 5–9.

Reincke, M., Faßnacht, M., Väh, S., Mora, P. and Allolio, B. (1996) 'Adrenal incidentalomas: A manifestation of the metabolic syndrome?', *Endocrine Research*, 22(4), pp. 757–761.

Reinhard, C., Saeger, W. and Schubert, B. (1996) 'Adrenocortical nodules in post-mortem series. Development, functional significance, and differentiation from adenomas', *General & diagnostic pathology*, 141(3–4), pp. 203–208.

Ribeiro, T. C. and Latronico, A. C. (2012) 'Insulin-like growth factor system on adrenocortical tumorigenesis', *Molecular and Cellular Endocrinology*, pp. 96–100.

Rilianawati, Kero, J., Paukku, T. and Huhtaniemi, I. (2000) 'Long-term testosterone treatment prevents gonadal and adrenal tumorigenesis of mice transgenic for the mouse inhibin- α subunit promoter/simian virus 40 T-antigen fusion gene', *Journal of Endocrinology*, 166(1), pp. 77–85.

Rilianawati, Paukku, T., Kero, J., Zhang, F.-P., Rahman, N., Kananen, K. and Huhtaniemi, I. (1998) 'Direct Luteinizing Hormone Action Triggers Adrenocortical Tumorigenesis in Castrated Mice Transgenic for The Murine Inhibin α -Subunit Promoter/Simian Virus 40 T-Antigen Fusion Gene', *Molecular Endocrinology*, 12(6), pp. 801–809.

Ronchi, C. L., Sbiera, S., Leich, E., Henzel, K., Rosenwald, A., Allolio, B. and Fassnacht, M. (2013) 'Single Nucleotide Polymorphism Array Profiling of Adrenocortical Tumors - Evidence for an Adenoma Carcinoma Sequence?', *PLoS ONE*, 8(9).

Saner-Amigh, K., Mayhew, B. a, Mantero, F., Schiavi, F., White, P. C., Rao, C. V and Rainey, W. E. (2006) 'Elevated expression of luteinizing hormone receptor in aldosterone-producing adenomas.', *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 91(3), pp. 1136–1142.

Seckl, J. R., Morton, N. M., Chapman, K. E. and Walker, B. R. (2004) 'Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue', in *RECENT PROGRESS IN HORMONE RESEARCH, VOL 59*, pp. 359–393.

Shoupe, D., Kumar, D. D. and Lobo, R. A. (1983) 'Insulin resistance in polycystic ovary syndrome.', *American journal of obstetrics and gynecology*, 147(5), pp. 588–92.

Song, J. H., Chaudhry, F. S. and Mayo-Smith, W. W. (2008) 'The Incidental Adrenal Mass on CT: Prevalence of Adrenal Disease in 1,049 Consecutive Adrenal Masses in Patients with No Known Malignancy', *American Journal of Roentgenology*, 190(5), pp. 1163–1168.

Szolar, D. H., Korobkin, M., Reittner, P., Berghold, A., Bauernhofer, T., Trummer, H., Schoellnast, H., Preidler, K. W. and Samonigg, H. (2005) 'Adrenocortical carcinomas and adrenal pheochromocytomas: mass and enhancement loss evaluation at delayed contrast-enhanced CT', *Radiology*, 234(2), pp. 479–485.

Terzolo, M., Bovio, S., Reimondo, G., Pia, A., Osella, G., Borretta, G. and Angeli, A. (2005) 'Subclinical Cushing's Syndrome in Adrenal Incidentalomas', *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 34(2), pp. 423–439.

Terzolo, M., Pia, A., Ali, A., Osella, G., Reimondo, G., Bovio, S., Daffara, F., Procopio, M., Paccotti, P., Borretta, G. and Angeli, A. (2002) 'Adrenal incidentaloma: A new cause of the metabolic syndrome?', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(3), pp. 998–1003.

Terzolo, M., Stigliano, A., Chiodini, I., Loli, P., Furlani, L., Arnaldi, G., Reimondo, G., Pia, A., Toscano, V., Zini, M., Borretta, G., Papini, E., Garofalo, P., Allolio, B., Dupas, B., Mantero, F. and Tabarin, A. (2011) 'AME Position Statement on adrenal incidentaloma', *European Journal of Endocrinology*, 164(6), pp. 851–870.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1950 (2018). Available at: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1950/ (Accessed: 20 June 2018).

Val, P., Jeays-Ward, K. and Swain, A. (2006) 'Identification of a novel population of adrenal-like cells in the mammalian testis', *Developmental Biology*, 299(1), pp. 250–256.

Vassilatou, E., Vryonidou, A., Ioannidis, D., Paschou, S. A., Panagou, M. and Tzavara, I. (2014) 'Bilateral adrenal incidentalomas differ from unilateral adrenal incidentalomas in subclinical cortisol hypersecretion but not in potential clinical implications', *European Journal of Endocrinology*, 171(1), pp. 37–45.

Vassiliadi, D. A., Ntali, G., Stratigou, T., Adali, M. and Tsagarakis, S. (2011) 'Aberrant cortisol responses to physiological stimuli in patients presenting with bilateral adrenal incidentalomas', *Endocrine*, 40(3), pp. 437–44.

Vigneri, P., Frasca, F., Sciacca, L., Pandini, G. and Vigneri, R. (2009) 'Diabetes and cancer', *Endocrine Related Cancer*, 16(4), pp. 1103–1123.

Vinson, G. P., Hinson, J. P. and Tóth, I. E. (1994) 'The Neuroendocrinology of the Adrenal Cortex', *Journal of Neuroendocrinology*, pp. 235–246.

Voutilainen, R. and Miller, W. L. (1988) 'Developmental and hormonal regulation of mRNAs for insulin-like growth factor II and steroidogenic enzymes in human fetal adrenals and gonads', *DNA*, 7(1), pp. 9–15.

Weber, M., Simmler, P., Fottner, C. and Engelhardt, D. (1995) 'Insulin-like growth factor ii (igf-ii) is more potent than igf-i in stimulating cortisol secretion from cultured bovine adrenocortical cells: Interaction with the igf-i receptor and igf-binding proteins', *Endocrinology*, 136(9), pp. 3714–3720.

Welbourn, R. (1990) *The History of Endocrine Surgery*. New York: Praeger Publishers.

Werk, E. E. J., Sholiton, L. J. and Kalejs, L. (2010) 'Testosterone-Secreting Adrenal Adenoma under Gonadotropin Control', *N. Engl. J. Med.*

White, P. C. and Speiser, P. W. (2000) 'Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency', *Endocrine reviews*, 21(3), pp. 245–91.

Winker, H. (1927) 'Citation classic', *Current contents*, p. 30:16.

Wy, L. A., Carlson, H. E., Kane, P., Li, X., Lei, Z. M. and Rao, C. V (2002) 'Pregnancy-associated Cushing's syndrome secondary to a luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor-positive adrenal carcinoma', *Gynecological Endocrinology*, 16(5), pp. 413–417.

Yener, S., Baris, M., Secil, M., Akinci, B., Comlekci, A. and Yesil, S. (2011) 'Is there an association between non-functioning adrenal adenoma and endothelial dysfunction?', *Journal of Endocrinological Investigation*, 34(4), pp. 265–270.

Yener, S., Genc, S., Akinci, B., Secil, M., Demir, T., Comlekci, A., Ertlav, S. and Yesil, S. (2009) 'Carotid intima media thickness is increased and associated with morning cortisol in subjects with non-functioning adrenal incidentaloma.', *Endocrine*, 35(3), pp. 365–70.

Yener, S., Yilmaz, H., Demir, T., Secil, M. and Comlekci, A. (2015) 'DHEAS for the prediction of subclinical Cushing's syndrome: perplexing or advantageous?', *Endocrine*, 48(2), pp. 669–676.

Yilmaz, H., Tütüncü, N. B. and Şahin, M. (2009) 'Two-year follow-up of thirty-two non-functional benign adrenal incidentalomas', *Journal of Endocrinological Investigation*, 32(11), pp. 913–916.

Young, W. (2011) 'Conventional Imaging in Adrenocortical Carcinoma: Update and Perspectives', *Hormones and Cancer*, 2(6), pp. 341–347.

Young, W. F. (2007) 'The Incidentally Discovered Adrenal Mass', *New England Journal of Medicine*, 356(6), pp. 601–610.

Young, W. and Kebebew, E. (2018) *The adrenal incidentaloma, UpToDate*.

8. SPISAK SKRAĆENICA

LH – luteinizirajući hormon
FSH – folikulostimulirajući hormon
ACTH – adrenokortikotropni hormon
AI – adrenalni incidentalomi
NAI – nefunkcijski adrenalni incidentalomi
(M)ASK – moguća autonomna sekrecija kortizola
1mg DST – prekonocni deksametazonski skrining test
ITM – indeks telesne mase
CT – kompjuterizovana tomografija
NMR – Nuklearna magnetna rezonanca
HU - Haunsfildove jedinice
DHEAS – dehidroepiandrosteron sulfat
HOMA-IR – homeostatski model insulinske rezistencije
OGTT – oralni test opterećenja šećerom
HHN – hipotalamus-hipofiza-nadbubreg

BIOGRAFIJA

Dr Ljiljana, Veselin, Marina (Radonjić) rođena je 14.10.1977. god. u Beogradu. Školske 1996/97. god. upisala je Medicinski fakultet u Beogradu. Diplomirala je 29.11.2002. god. sa prosečnom ocenom 9.97 (devet devedeset sedam). U toku studija više puta je nagrađivana za postignute rezultate. Oktobra 1999. god., u konkurenciji od blizu 800 najboljih učenika i studenata, dobila je stipendiju Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmladka, čiji je stipendista bila do oktobra 2004. god. 2002. god. izabrana je za stipendistu Fondacije kraljevske porodice Karađorđević. Od avgusta 2006. god. zaposlena je u stalnom radnom odnosu u Klinici za endokrinologiju, Kliničkog centra Srbije. Magistarsku tezu „Subklinička tiroidna bolest i rizik od kardiovaskularnih oboljenja“ odbranila je 31. Maja 2007. god., mentor Prof. dr Milka Drezgić. Specijalistički ispit položila je sa odličnom ocenom 25. oktobra 2012. god. U januaru 2015. god. upisala je subspecijalizaciju iz oblasti endokrinologije. Od 2011. god. je saradnik na projektu odobrenom od strane Ministarstva za nauku pod nazivom “Istraživanje endokrinih regulatornih mehanizama, markera sistemske inflamacije i kardiovaskularnih faktora rizika u metaboličkim bolestima” (broj OI 175067, rukovodilac Akademik prof dr Dragan Micić). Publikovala je 17 radova *in extenso* a u dva rada je prvi, odnosno korespondirajući autor. Koautor je 6 poglavlja u međunarodnim knjigama *Springer* edicije. Takođe, autor je i koautor u preko sto radova koji su prikazani na međunarodnim i skupovima od nacionalnog značaja.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Ljiljana Marina

broj upisa _____

Izjavljujem

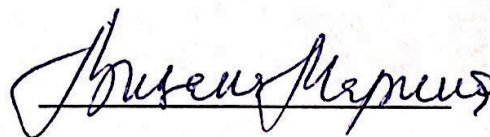
da je doktorska disertacija pod naslovom

**„Uticaj luteinizirajućeg hormona na sekreciju steroida kore nadbubrega
kod osoba sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega“**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.06.2018.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ljiljana Marina

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „**Uticaj luteinizirajućeg hormona na sekreciju steroida kore nadbubrega kod osoba sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega**“

Mentor Prof. Svetlana Vujović

Potpisani Ljiljana Marina

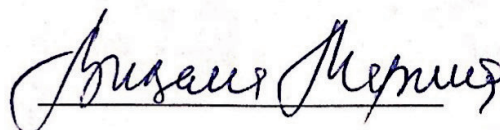
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.06.2018.



Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Uticaj luteinizirajućeg hormona na sekreciju steroida kore nadbubrega kod osoba sa slučajno otkrivenim tumorima nadbubrega“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

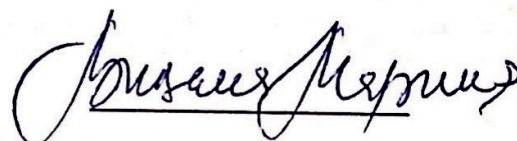
Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, ___25.06.2018.____



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.