



Оригинальная статья

Взаимосвязь показателей клинического анализа крови и стероидного метаболома мочи у больных с объемными образованиями надпочечников

Ворохобина Н.В.¹ • Калугина В.В.¹ • Великанова Л.И.¹ • Шафигуллина З.Р.¹ • Малеваная Е.В.¹ • Лисицын А.А.¹

Ворохобина Наталья Владимировна – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-105X>. E-mail: natvorokh@mail.ru

Калугина Валентина Викторовна – аспирант кафедры эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2812-6911>. E-mail: kaluginavav@gmail.com

Великанова Людмила Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, заведующая научно-исследовательской лабораторией хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9352-4035>

✉ 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кировная, 41, Российская Федерация. E-mail: velikanova46@gmail.com

Шафигуллина Зульфия Ривгатовна – канд. мед. наук, доцент кафедры эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8292-8504>. E-mail: zula183@mail.ru

Малеваная Екатерина Валерьевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0880-0814>. E-mail: e.malevanaia@gmail.com

Лисицын Александр Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской хирургии им. И.И. Грекова¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2045-0044>. E-mail: 9213244516@mail.ru

Обоснование. Традиционно эндогенный гиперкортизолизм ассоциируется с иммунной супрессией, однако у таких больных наблюдаются и признаки, свойственные хроническим воспалительным заболеваниям. Лучшее понимание механизмов, изменяющих функционирование иммунной системы, позволит разработать пациент-ориентированный подход к лечению больных кортикотропин-независимым эндогенным синдромом Кушинга (СК).

Цель – установить связь показателей периферической крови больных с объемными образованиями надпочечников и экскреции кортикостероидов с мочой, исследованной методом газовой хромато-масс-спектрометрии, в зависимости от злокачественности опухоли и наличия гиперкортизолизма.

Материал и методы. Ретроспективно проанализированы данные обследования 42 больных с новообразованиями надпочечников, не получавших химиотерапевтического лечения в анамнезе. Медиана возраста обследованных составила 54 [Q25; Q75: 37; 63] года, женщин было 76% (32/42). В дооперационном периоде всем пациентам выполнен клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы, исследован стероидный метаболом мочи на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ8050.

Результаты. У 12 пациентов был аденокортикальный рак (АКР) и СК, у 9 – АКР без СК, у 11 – аденокортикальные аденомы (АКА) и СК, у 10 – АКА без СК. Определено большее значение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (НЛИ) у больных АКР по сравнению с больными АКА: 3,35 [2,5; 6,3] и 1,99 [1,41; 2,65] ($p = 0,001$). Выявлена линейная зависимость НЛИ от уровня кортизола крови после ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона ($r = 0,41$, $p = 0,01$), экскреции с мочой 5 β -тетрагидрокортизола ($r = 0,71$, $p < 0,001$) и 11 β -гидроксиандростерона ($r = 0,74$,

$p < 0,001$). Установлены меньшие значения экскреции 5 β -тетрагидрокортизола у больных АКР без СК по сравнению с больными АКА с СК: 931 [616; 1610] и 3139 [1480; 4375] мкг/сут ($p = 0,007$). Экскреция с мочой 11 β -гидроксиандростерона у больных АКР без СК была выше в отличие от больных АКА с СК: 1170 [806; 1266] и 602 [320; 739] мкг/сут ($p = 0,007$). Пороговое значение НЛИ для определения злокачественного потенциала опухоли надпочечника у больных с СК составило более 2,72 (чувствительность – 90,0%, специфичность – 80,0%), для пациентов без гиперкортизолизма – более 1,92 (чувствительность – 71,4%, специфичность – 100,0%).

Заключение. Впервые получены данные о зависимости НЛИ, отражающего уровень системного воспаления, от экскреции с мочой 11 β -гидроксиандростерона, метаболита 11-гидроксиандростендиона, представителя 11-оксигенированных андрогенов, что расширяет представления о воздействии на иммунную систему гормональной активности клеток опухолей надпочечников.

Ключевые слова: аденокортикальный рак, синдром Кушинга, стероидный метаболом мочи, газовая хромато-масс-спектрометрия, нейтрофильно-лимфоцитарный индекс

Для цитирования: Ворохобина НВ, Калугина ВВ, Великанова ЛИ, Шафигуллина ЗР, Малеваная ЕВ, Лисицын АА. Взаимосвязь показателей клинического анализа крови и стероидного метаболома мочи у больных с объемными образованиями надпочечников. Альманах клинической медицины. 2024;52(3):140–148. doi: 10.18786/2072-0505-2024-52-004.

Поступила 12.02.2024; доработана 25.03.2024; принята к публикации 29.03.2024; опубликована онлайн 09.04.2024

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России; 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кировная, 41, Российская Федерация



Кортикотропин-независимый эндогенный гиперкортизолизм наблюдается у 5% больных с объемными образованиями надпочечников [1]. У большинства из них источником избыточной продукции кортизола служит доброкачественная опухоль, исходящая из сетчатой зоны коркового вещества надпочечников, аденокортикальный рак (АКР) встречается у 2% больных [2].

Клинические проявления манифестного синдрома Кушинга (СК) характеризуются большим разнообразием, что обусловлено особенностями действия глюкокортикостероидов. Известно, что комбинация воспаления и нарушенного иммунного ответа вносит вклад в патогенез стероидного диабета, висцерального ожирения, атеросклероза, остеопороза, когнитивных нарушений, предрасположенности к инфекционным заболеваниям, наблюдающихся у таких больных [3].

В литературе есть данные о связи выраженности изменений показателей клинического анализа крови со степенью тяжести гиперкортизолизма [4]. Разработаны индексы, характеризующие системное воспаление у больных с солидными опухолями различной локализации. Среди наиболее обсуждаемых показателей отношения нейтрофилов к лимфоцитам крови – нейтрофильно-лимфоцитарный индекс (НЛИ), суррогатный маркер активации клеточного иммунитета, применяющийся для оценки иммунного ответа [4–7]. Установлены более высокие значения НЛИ у больных СК по сравнению с практически здоровыми лицами [8], а также с больными аденокортикальной аденомой (АКА) без гормональной активности клеток опухоли, определенной традиционными лабораторными методами [9]. В работе M. Detomas и соавт. значения НЛИ у больных АКР с гиперкортизолизмом и кортикотропин-эктопическим синдромом были выше в отличие от обследованных с кортикотропиномами и кортикостеромами [7]. V. Favero и соавт. показали зависимость величины НЛИ от уровня кортизола крови после ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (ПДТ1) и на этом основании сделали вывод о влиянии гиперкортизолизма на уровень системного воспаления у больных с доброкачественными объемными образованиями надпочечников [4].

Исследование стероидных метаболитов мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) играет важную роль в диагностике заболеваний надпочечников, благодаря возможности комплексной оценки синтеза и метаболизма кортикостероидов. Показаны преимущества ГХ-МС в обнаружении гормональной активности клеток

опухолей надпочечников в сравнении с традиционными биохимическими методами, подтверждена высокая диагностическая ценность метода в определении злокачественного потенциала новообразований надпочечников на ранних этапах заболевания и в выявлении рецидива АКР после хирургического лечения [10–13].

Работы по установлению зависимости показателей клинического анализа крови от гормональной активности клеток новообразований надпочечников, определенной методом ГХ-МС, в литературе не представлены.

Цель – установить связь показателей периферической крови больных с объемными образованиями надпочечников и экскреции кортикостероидов с мочой, исследованной методом ГХ-МС, в зависимости от злокачественности опухоли и наличия гиперкортизолизма.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ результатов обследования 42 больных с объемными образованиями надпочечников – АКР (n = 21) и АКА (n = 21). Все больные наблюдались в Центре патологии надпочечников клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России с 2014 по 2023 г. Медиана возраста больных составила 54 [Q25; Q75: 37; 63] года. Преобладали женщины – 76% (32/42). Медиана индекса массы тела, рассчитанная по формуле Кетле (кг/м²), составила 26 [22; 28]. У 12 (57%) пациентов с АКР на этапе установления диагноза стадия II заболевания по классификации Европейской рабочей группы по изучению опухолей надпочечников (ENSAT, 2009 г.), у 6 (29%) – III стадия, у 3 больных – IV стадия [14]. В исследование были включены пациенты старше 18 лет с гистологически подтвержденным диагнозом, предоставившие письменное согласие на обследование и использование их медицинских данных в научных целях. Критериями исключения служили наличие воспалительных заболеваний, острой сердечно-сосудистой патологии в течение предшествующих 3 месяцев, аутоиммунных, гематологических заболеваний, сахарного диабета, болезней печени, почек, злокачественных опухолей другой локализации, химиотерапевтического лечения в анамнезе. Этическая экспертиза исследования не проводилась в связи с его ретроспективным характером.

Уровни кортизола после ПДТ1, альдостерона, ренина, дегидроэпиандростерона-сульфата в сыворотке крови, кортикотропина плазмы, метанефрина и норметанефрина в суточной моче оценивали с помощью традиционных методов



иммуноанализа. Наличие кортикотропин-независимого СК подтверждали на основании сочетания характерных клинических проявлений гиперкортизолизма и результатов лабораторных методов обследования.

Всем больным в дооперационном периоде выполнялся клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы. Величину НЛИ рассчитывали как отношение абсолютного количества нейтрофилов к абсолютному количеству лимфоцитов крови [5].

Всем обследованным проведено хирургическое лечение с последующим патоморфологическим исследованием послеоперационного материала по шкале L.M. Weiss [15]. При наборе 3 и более баллов подтверждался диагноз АКР, менее 3 баллов – АКА.

В соответствии с результатами проведенного обследования больные были распределены на 4 группы: первую группу составили 12 пациентов с АКР с СК, вторую – 9 пациентов с АКР без СК, третью – 11 пациентов с АКА с СК и четвертую группу – 10 пациентов с АКА без СК. Группы были сопоставимы по полу, возрасту и индексу массы тела. Между больными первой и второй групп различий в распространенности онкологического

процесса не было. У больных АКР с СК и АКА с СК уровни кортизола крови после ПДТ1 были выше: 618 [425; 731] и 508 [446; 601] нмоль/л по сравнению с больными АКР и АКА без СК: 31 (28–35) и 36 (27–40) нмоль/л соответственно ($p < 0,001$).

У всех обследованных определена экскреция с мочой метаболитов кортикостероидов до хирургического лечения. Стероидные профили мочи больных исследовали методом ГХ-МС на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ8050 в научно-исследовательской лаборатории хроматографии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России [16].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программных пакетов MedCalc. Использовали методы непараметрической статистики. Количественные характеристики обследованных представлены в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей [Q25; Q75]. Для сравнения результатов использовали критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми считали значения критерия $p < 0,008$ с учетом поправки Бонферрони. Для изучения соотношения между показателями клинического анализа крови, НЛИ и уровнем кортизола после ПДТ1, экскрецией с мочой кортикостероидов применяли метод линейной регрессии.

Таблица 1. Показатели клинического анализа крови и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса больных в зависимости от злокачественности объемного образования надпочечника и наличия синдрома Кушинга

Показатель	АКР и СК (n = 12)	АКР без СК (n = 9)	АКА и СК (n = 11)	АКА без СК (n = 10)
	1	2	3	4
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	9,70 [8,00; 11,20] $p_{1-4} = 0,004$	7,40 [6,18; 9,32]	7,85 [6,04; 10,50]	5,74 [4,60; 6,30]
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	7,26 [6,21; 8,94] $p_{1-2} = 0,04$ $p_{1-3} = 0,03$ $p_{1-4} = 0,0002$	4,88 [3,21; 5,80]	4,77 [3,95; 6,14] $p_{3-4} = 0,004$	2,91 [1,97; 2,99]
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,47 [0,88; 2,10] $p_{1-2} = 0,07$	1,86 [1,78; 2,25]	2,21 [1,46; 2,46]	2,02 [1,76; 2,33]
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,00 [0,00; 0,03] $p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-4} = 0,01$	0,22 [0,13; 0,36] $p_{2-3} = 0,02$	0,05 [0,00; 0,10]	0,25 [0,04; 0,63]
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	242,00 [215,00; 275,00]	279,00 [257,25; 324,00] $p_{2-4} = 0,02$	266,50 [171,00; 295,00]	227,50 [207,00; 253,00]
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс	4,87 [3,35; 9,22] $p_{1-2} = 0,009$ $p_{1-3} = 0,009$ $p_{1-4} = 0,003$	2,52 [1,63; 2,70] $p_{2-4} = 0,002$	2,57 [2,06; 2,72] $p_{3-4} = 0,001$	1,25 [0,87; 1,66]

АКА без СК – группа больных с аденокортикальной аденомой без гиперкортизолизма, АКА и СК – группа больных с аденокортикальной аденомой с синдромом Кушинга, АКР без СК – группа больных аденокортикальным раком без гиперкортизолизма, АКР и СК – группа больных аденокортикальным раком с синдромом Кушинга

p – статистическая значимость различий между группами больных АКР и СК, АКР без СК, АКА и СК, АКА без СК после применения поправки Бонферрони

Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25; Q75]

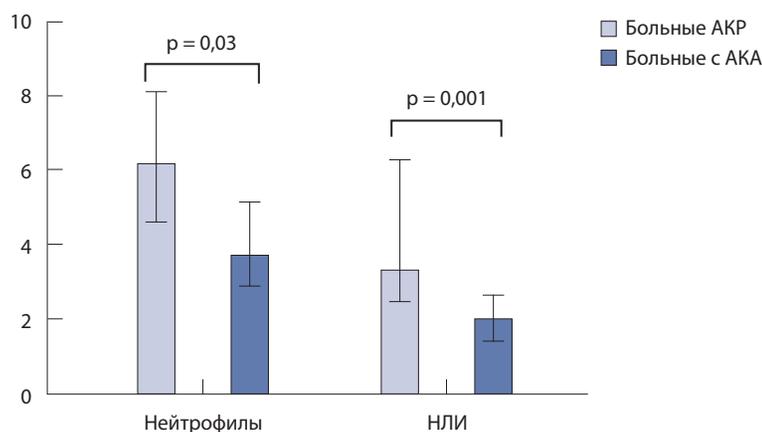


Рис. 1. Количество нейтрофилов крови ($\times 10^9/\text{л}$) и величина нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (НЛИ) у больных аденокортикальным раком (АКР) и с аденокортикальными аденомами (АКА)

С целью получения оптимальной точки разделения величины НЛИ для диагностики злокачественного потенциала опухоли надпочечника в дооперационном периоде выполняли анализ с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ).

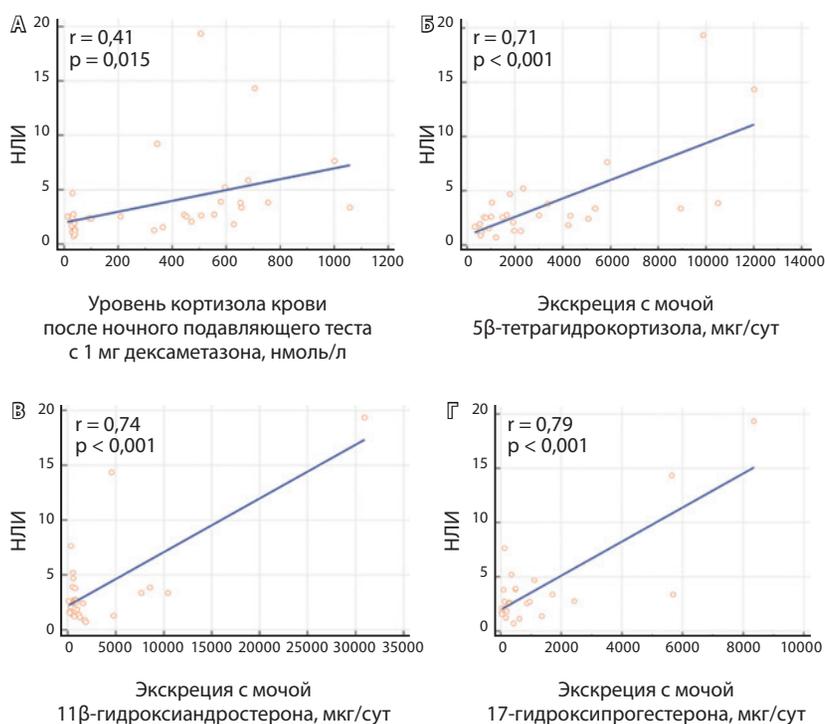


Рис. 2. Зависимость величины нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (НЛИ) от уровня кортизола крови после ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона (А), экскреции 5 β -тетрагидрокортизола с мочой (Б), экскреции 11 β -гидроксиандростерона с мочой (В), экскреции 17-гидроксипрогестерона с мочой (Г)

Результаты

Исследованы показатели клинического анализа крови у больных в зависимости от злокачественности новообразования надпочечника и наличия СК (табл. 1). Количество лейкоцитов и нейтрофилов у больных АКР с СК было выше по сравнению с больными АКА без СК. Определено большее количество нейтрофилов крови у пациентов с АКА с СК в отличие от больных АКА без СК.

Значения НЛИ и количество нейтрофилов были выше у больных АКР по сравнению с пациентами с АКА (рис. 1). У обследованных с АКР и СК величина НЛИ была выше по сравнению с больными АКА без СК и наблюдалась тенденция к большей величине НЛИ по сравнению с больными АКР без СК и АКА с СК. НЛИ был выше у больных АКР без СК и у пациентов с АКА с СК в отличие от обследованных с АКА без СК (см. табл. 1).

Проведен сравнительный анализ стероидных профилей мочи обследованных (табл. 2). У больных с аденокарциномами по сравнению с пациентами с доброкачественными опухолями надпочечников определена повышенная экскреция с мочой основных биомаркеров АКР: 5 β -тетрагидро-11-дезоксикортизола (ТНС), этиохоланолона (Ет), дегидроэпиандростерона (ДНЕА), 17-гидроксипрогестерона (17-ОНР), прегнандиола (Р2), прегнантриола (Р3), прегнендиола (dP2).

Наибольшая экскреция с мочой 5 β -тетрагидрокортизола (5 β -ТНФ) определена в группе больных АКР с СК: 6045 [2251; 9875] мкг/сут. Экскреция тетрагидрометаболита кортизола у больных с АКА и СК была выше, чем у больных АКА без СК. Различий в экскреции 5 β -ТНФ между больными АКР и АКА без СК не выявлено. Получена повышенная экскреция с мочой 5 β -тетрагидрокортизола (5 β -ТНЕ), метаболита кортизола, и 5 β -тетрагидрокортикостерона (5 β -ТНВ), метаболита кортикостерона, у больных АКР с СК в отличие от пациентов с АКА без СК. У больных с АКА и СК экскреция с мочой 5 β -ТНВ превышала соответствующий показатель у пациентов с АКА без СК (см. табл. 2).

Экскреция с мочой 11 β -гидроксиандростерона (11 β -ОН-Ан), метаболита 11-гидроксиандростендиона, была выше у всех больных АКР по сравнению с обследованными с доброкачественными объемными образованиями надпочечников. У больных АКР без СК наблюдалась большая экскреция 11 β -ОН-Ан по сравнению с пациентами АКА с СК и АКА без СК. Различий в экскреции 11 β -ОН-Ан у больных АКР и АКА в зависимости от наличия гиперкортизолизма не определено.



Величина экскреции с мочой 17-ОНР была выше у больных АКР с СК в отличие от пациентов АКА с СК и АКА без СК. У обследованных с АКА без СК наблюдались меньшие значения экскреции

17-ОНР с мочой в сравнении с больными АКР без СК (см. табл. 2).

У всех больных исследована связь показателей клинического анализа крови и уровня

Таблица 2. Экскреция кортикостероидов и их метаболитов с мочой, полученная методом газовой хромато-масс-спектрометрии, у больных в зависимости от злокачественности объемного образования надпочечника и наличия синдрома Кушинга

Экскреция кортикостероида с мочой, мкг/сут	АКР и СК (n = 12)	АКР без СК (n = 9)	АКА и СК (n = 11)	АКА без СК (n = 10)	АКР (n = 21)	АКА (n = 21)
	1	2	3	4	5	6
Метаболиты глюкокортикоидов и минералокортикоидов						
5β-тетрагидро-11-дезоксикортизол (5β-THS)	2496 [577; 6157] p ₁₋₃ = 0,001 p ₁₋₄ = 0,0003	1000 [690; 3999] p ₂₋₃ = 0,006 p ₂₋₄ = 0,001	418 [161; 617] p ₃₋₄ = 0,0009	71 [40; 132]	1269 [642; 4507] p ₅₋₆ < 0,0001	162 [86; 477]
5β-тетрагидрокортизол (5β-THF)	6045 [2251; 9875] p ₁₋₂ = 0,003 p ₁₋₄ = 0,0001	931 [616; 1610] p ₂₋₃ = 0,007	3139 [1480; 4375] p ₃₋₄ = 0,001	585 [530; 1002]	2251 [1015; 9181]	1107 [585; 2162]
5β-тетрагидрокортизон (5β-THE)	8153 [2377; 10800] p ₁₋₄ = 0,005	2289 [1957; 2502]	3936 [2383; 4316]	1836 [1567; 2727]	2526 [2205; 10305]	2418 [1806; 4194]
5β-тетрагидрокортикостерон (5β-TNB)	401 [185; 800] p ₁₋₄ = 0,0006	152 [119; 180]	282 [182; 695] p ₃₋₄ = 0,004	70 [53; 141]	271 [148; 571]	144 [75; 296]
Метаболиты андрогенов						
11β-гидроксиандростерон (11β-ОН-Ан)	4681 [493; 8574] p ₁₋₂ = 0,04 p ₁₋₃ = 0,005 p ₁₋₄ = 0,006	1170 [806; 1266] p ₂₋₃ = 0,007 p ₂₋₄ = 0,007	602 [320; 739]	656 [460; 818]	1712 [869; 7899] p ₅₋₆ = 0,0006	624 [390; 778]
Этиохоланолон (Et)	3658 [544; 6832] p ₁₋₃ = 0,003 p ₁₋₄ = 0,004	2203 [1868; 4655] p ₂₋₃ = 0,0001 p ₂₋₄ = 0,0001	224 [173; 251]	190 [151; 407]	2500 [1594; 5937] p ₅₋₆ < 0,0001	200 [152; 336]
Дегидроэпиандростерон (DHEA)	6593 [2211; 21085] p ₁₋₃ = 0,002 p ₁₋₄ = 0,005	7441 [1652; 20147] p ₂₋₃ = 0,001 p ₂₋₄ = 0,001	9 [5; 15] p ₃₋₄ = 0,008	46 [23; 87]	7017 [1449; 17524] p ₅₋₆ < 0,0001	22 [9; 46]
Метаболиты прогестагенов						
17-гидроксипрогестерон (17-ОНР)	1490 [168; 5836] p ₁₋₃ = 0,003 p ₁₋₄ = 0,001	619 [256; 1363] p ₂₋₃ = 0,018 p ₂₋₄ = 0,004	161 [57; 300]	78 [34; 174]	1112 [384; 2245] p ₅₋₆ < 0,0001	106 [45; 284]
Прегнандиол (P2)	6273 [2733; 12992] p ₁₋₃ = 0,008 p ₁₋₄ = 0,005	1781 [1249; 3517] p ₂₋₃ = 0,001 p ₂₋₄ = 0,0003	378 [281; 977]	228 [157; 640]	3528 [1636; 7720] p ₅₋₆ = 0,001	355 [230; 695]
Прегнантриол (P3)	2574 [1057; 7145] p ₁₋₃ = 0,002 p ₁₋₄ = 0,007	2414 [1170; 4915] p ₂₋₃ = 0,0007 p ₂₋₄ = 0,001	303 [241; 437]	712 [339; 821]	2414 [1149; 5487] p ₅₋₆ = 0,001	359 [259; 730]
Прегнендиол (dP2)	4326 [421; 6256] p ₁₋₃ = 0,009 p ₁₋₄ = 0,003	3084 [1414; 4984] p ₂₋₃ = 0,0004 p ₂₋₄ = 0,0003	212 [95; 525]	490 [174; 601]	3214 [1257; 5356] p ₅₋₆ = 0,0001	396 [108; 555]

АКА – группа больных с аденокортикальной аденомой, АКА без СК – группа больных с аденокортикальной аденомой без гиперкортизолизма, АКА и СК – группа больных с аденокортикальной аденомой с синдромом Кушинга, АКР – группа больных аденокортикальным раком, АКР без СК – группа больных аденокортикальным раком без гиперкортизолизма, АКР и СК – группа больных аденокортикальным раком с синдромом Кушинга

p – статистическая значимость различий между группами больных АКР и АКА, АКР и СК, АКР без СК, АКА и СК, АКА без СК после применения поправки Бонферрони

Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25; Q75]



кортизола крови после ПДТ1 со стероидным метаболомом мочи по данным ГХ-МС. Установлена линейная зависимость величины НЛИ от уровня кортизола крови после ПДТ1, экскреции с мочой 5 β -ТНФ, 11 β -ОН-Ап и 17-ОНР (рис. 2). Получены пороговые значения НЛИ для определения злокачественного потенциала опухолей надпочечников у больных в дооперационном периоде в зависимости от наличия гиперкортизолизма (рис. 3). Превышение значения НЛИ более 2,72 позволяло с 90,0% чувствительностью и 80,0% специфичностью диагностировать АКР у больных с СК. Значения НЛИ более 1,92 с 71,4% чувствительностью и 100,0% специфичностью свидетельствовали о злокачественном потенциале опухоли надпочечника у больных без гиперкортизолизма.

Обсуждение

Проведено исследование влияния гормональной активности клеток объемных образований надпочечников, определенной традиционными биохимическими методами и с помощью ГХ-МС, на показатели периферической крови больных в зависимости от злокачественности опухоли.

Давно отмечено влияние различных инфекционных и неинфекционных стимулов на показатели клинического анализа крови, а также предрасположенность больных СК к воспалительным заболеваниям [3]. Для исключения воздействия воспалительных,

сердечно-сосудистых, аутоиммунных, гематологических заболеваний, болезней почек и печени, а также химиотерапевтического лечения на показатели клинического анализа крови проведен тщательный анализ данных анамнеза и клинико-лабораторных характеристик больных. Пациенты с вышеперечисленной патологией, а также получающие химиотерапию в данное исследование не включались.

В нашей работе показано большее количество лейкоцитов и нейтрофилов крови у больных АКР с гиперкортизолизмом в сравнении с больными АКА без СК. НЛИ был выше у больных АКР в отличие от пациентов с АКА. Известно, что кортизол оказывает влияние на гемопоэз и количество циркулирующих иммунных клеток [3]. Нейтрофилия у онкологических больных также может быть связана с секрецией клетками опухоли миелоидных факторов роста, вторичным воспалением, обусловленным разрушением нормальной ткани злокачественным новообразованием, а также с гиперцитокинемией [5].

В настоящем исследовании выявлена высокая линейная зависимость НЛИ от величины экскреции с мочой 5 β -ТНФ, 11 β -ОН-Ап и 17-ОНР. Связь величины экскреции с мочой 5 β -ТНФ, метаболита кортизола, и маркеров периферической крови, ассоциированных с системным воспалением, у больных с новообразованиями надпочечников свидетельствует о свойствах главного глюкокортикостероида. Показано, что не менее 90% экскретируемого с мочой 11 β -ОН-Ап является метаболитом 11-гидроксиандростендиона и около 5–10% – кортизола [17]. Полученное нами отсутствие различий в экскреции с мочой 11 β -ОН-Ап в группах больных АКР и АКА в зависимости от наличия СК поддерживает данную оценку. Синтезированный в сетчатой зоне коркового вещества 11-гидроксиандростендион с помощью 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2-го типа (HSD17B2) превращается в 11-кетандростендион, служащий субстратом для альдо-кеторедуктазы (AKR1C3), метаболизирующей его в 11-кетостерон, который связывается и активирует андрогеновые рецепторы с теми же аффинностью и силой, что и тестостерон [18]. Экскреция с мочой 17-ОНР отражает синтез главного предшественника глюкокортикостероидов – 17-гидроксипрогестерона, поэтому выявленная нами зависимость количества нейтрофилов, лимфоцитов крови и величины НЛИ от экскреции 17-ОНР говорит о связи этих показателей с продукцией кортизола.

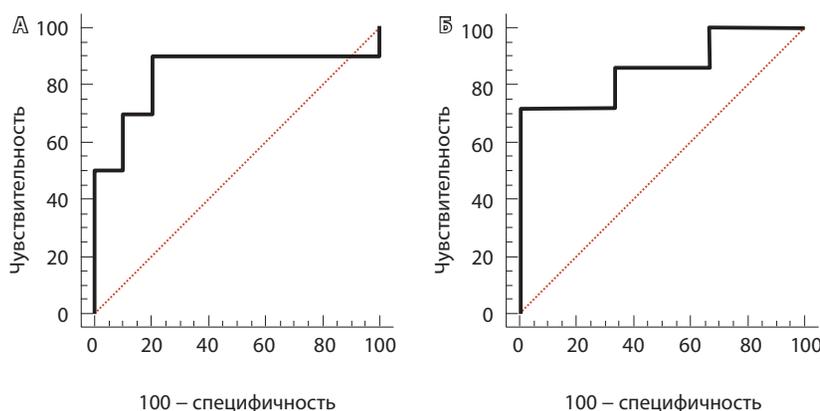


Рис. 3. Чувствительность и специфичность нейтрофильно-лимфоцитарного индекса для определения злокачественного потенциала объемного образования надпочечника в дооперационном периоде у больных с синдромом Кушинга (**А**; чувствительность 90%, специфичность 80%, критерий > 2,72, AUC = 0,840, $p = 0,001$) и без гиперкортизолизма (**Б**; чувствительность 71,4%, специфичность 100%, критерий > 1,92, AUC = 0,857, $p = 0,001$); AUC – площадь под кривой (англ. area under the curve)



В нашем исследовании установлены равные количество нейтрофилов крови и значения НЛИ у больных АКР без СК и пациентов с АКА и СК. Вместе с тем у больных с аденокарциномами отмечена большая экскреция с мочой 11β -ОН-Ап, а у больных с доброкачественными опухолями надпочечников – 5β -ТНФ, что может свидетельствовать о воздействии 11 -гидроксиандростендиона на уровень системного воспаления, определенного с помощью НЛИ, у больных АКР вне зависимости от наличия гиперкортизолизма. Нашу гипотезу подкрепляют опубликованные данные о наличии на лейкоцитах глюкокортикоидных и андрогеновых рецепторов [19], структурной схожести и единой консенсусной последовательности, распознающей обоими рецепторами, и о возможном взаимодействии глюкокортикостероидов и андрогенов на функциональном уровне [20].

В настоящей работе определены пороговые значения НЛИ для диагностики АКР у пациентов с объемными образованиями надпочечников в дооперационном периоде в зависимости от наличия СК. Величина индекса более 2,72 у больных с гиперкортизолизмом обладала высокой чувствительностью, но недостаточной специфичностью для определения злокачественного потенциала опухоли, в то время как НЛИ более 1,92 – 100,0% специфичностью, но недостаточной чувствительностью у обследованных без СК.

В исследовании L.I. Velikanova и соавт. [11] продемонстрированы 100,0% чувствительность и специфичность повышения экскреции с мочой ТНС и/или ДНЕА с обнаружением экскреции неклассических 5-ene -прегненов и снижением соотношений $3\alpha,16,20\text{-dP3}/3\beta,16,20\text{-dP3}$ менее 6,0 и $3\alpha,17,20\text{-dP3}/3\beta,17,20\text{-dP3}$ менее 9,0 для диагностики АКР в дооперационном периоде. Таким образом, диагностическая

ценность исследования стероидных метаболитов мочи больных методом ГХ-МС для определения злокачественного потенциала объемных образований надпочечников превосходит таковую НЛИ.

Заключение

Исследование показателей периферической крови и стероидных метаболитов мочи больных с объемными образованиями надпочечников до хирургического лечения позволило определить различия в значениях НЛИ, отражающего уровень системного воспаления, у больных АКР и АКА. Равные значения индекса у больных АКР без СК и АКА с СК, различные величины экскреции 11β -ОН-Ап и 5β -ТНФ в данных группах, а также зависимость НЛИ от экскреции с мочой данных кортикостероидов позволили предположить влияние уровня 11 -гидроксиандростендиона, представителя 11 -оксигенированных надпочечниковых андрогенов, на НЛИ.

Диагностическая ценность полученных отрезных точек значений НЛИ для определения злокачественного потенциала опухолей надпочечников в дооперационном периоде в зависимости от наличия СК не превосходила таковую исследования экскреции с мочой основных биомаркеров АКР. Несмотря на это, после валидации в проспективных исследованиях данный параметр может стать дополнительным признаком АКР у больных до хирургического лечения.

Интересным направлением дальнейших исследований представляется установление связи уровней С-реактивного белка, провоспалительных цитокинов, субпопуляций лимфоцитов и моноцитов и стероидного метаболита мочи у больных с объемными образованиями надпочечников в зависимости от злокачественности опухоли и наличия гиперкортизолизма. [©]

Дополнительная информация

Финансирование

Работа проведена в рамках выполнения Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № НИОКТР 122012100080-3.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Н.В. Ворохобина – анализ клинико-экспериментальных результатов исследования, редактирование текста, утверждение итогового варианта

текста рукописи; В.В. Калугина – сбор клинического материала, статистическая обработка данных, написание текста; Л.И. Великанова – анализ полученных результатов, статистическая обработка данных, написание текста рукописи; З.Р. Шафигуллина – сбор клинического материала, анализ полученных данных; Е.В. Малеваная – проведение исследований методом газовой хромато-масс-спектрометрии, анализ полученных данных; А.А. Лисицын – хирургическое лечение больных с образованиями надпочечников. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.



Список литературы / References

- Prete A, Subramanian A, Bancos I, Chortis V, Tsagarakis S, Lang K, Macech M, Delivanis DA, Pupovac ID, Reimondo G, Marina LV, Deutschbein T, Balomenaki M, O'Reilly MW, Gilligan LC, Jenkinson C, Bednarczuk T, Zhang CD, Dusek T, Diamantopoulos A, Asia M, Kondracka A, Li D, Masjkur JR, Quinkler M, Ueland GA, Dennedy MC, Beuschlein F, Tabarin A, Fassnacht M, Ivović M, Terzolo M, Kastelan D, Young WF Jr, Manolopoulos KN, Ambroziak U, Vassiliadi DA, Taylor AE, Sitch AJ, Nirantharakumar K, Arlt W; ENSAT EURINE-ACT Investigators; ENSAT EURINE-ACT Investigators. Cardiometabolic Disease Burden and Steroid Excretion in Benign Adrenal Tumors: A Cross-Sectional Multicenter Study. *Ann Intern Med.* 2022;175(3):325–334. doi: 10.7326/M21-1737.
- Cawood TJ, Hunt PJ, O'Shea D, Cole D, Soule S. 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? *Eur J Endocrinol.* 2009;161(4):513–527. doi: 10.1530/EJE-09-0234.
- Hasenmajer V, Sbardella E, Sciarra F, Minnetti M, Isidori AM, Venneri MA. The Immune System in Cushing's Syndrome. *Trends Endocrinol Metab.* 2020;31(9):655–669. doi: 10.1016/j.tem.2020.04.004.
- Favero V, Prete A, Mangone A, Elhassan YS, Pucino V, Asia M, Hardy R, Chiodini I, Ronchi CL. Inflammation-based scores in benign adrenocortical tumours are linked to the degree of cortisol excess: a retrospective single-centre study. *Eur J Endocrinol.* 2023;189(5):517–526. doi: 10.1093/ejendo/lvad151.
- Marques P, de Vries F, Dekkers OM, van Furth WR, Korbonits M, Biermasz NR, Pereira AM. Pre-operative serum inflammation-based scores in patients with pituitary adenomas. *Pituitary.* 2021;24(3):334–350. doi: 10.1007/s11102-020-01112-5.
- Sisman P, Bicer B, Gul OO, Cander S, Ersoy C, Saraydaroglu O, Erturk E. May hemocytometer parameters be a biomarker in distinguishing between adrenal adenomas and carcinomas and in prognosis of adrenocortical carcinomas? *Acta Clin Croat.* 2020;59(3):439–444. doi: 10.20471/acc.2020.59.03.07.
- Detomas M, Altieri B, Chifu I, Remde H, Zhou X, Landwehr LS, Sbiara S, Kroiss M, Fassnacht M, Deutschbein T. Subtype-specific pattern of white blood cell differential in endogenous hypercortisolism. *Eur J Endocrinol.* 2022;187(3):439–449. doi: 10.1530/EJE-22-0211.
- Paja M, Merlo I, Rodríguez-Soto J, Cruz-Iglesias E, Moure MD, Elías C, Oleaga A, Egaña N. White blood cell count: a valuable tool for suspecting Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2023;46(1):141–149. doi: 10.1007/s40618-022-01892-6.
- Wang W, Wang J, Shen C, Zhu S, Gao Y, Zhang J. Neutrophil-Lymphocyte Ratio as an Initial Screening Biomarker for Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome from Nonfunctional Adenoma in Patients with an Adrenal Mass. *Biomed Res Int.* 2021;2021:6635594. doi: 10.1155/2021/6635594.
- Великанова ЛИ, Ворохобина НВ, Шафигуллина ЗР, Калугина ВВ, Малеваная ЕВ, Стрельникова ЕГ, Буйнова МО, Лисицын АА, Кушлинский НЕ. Взаимосвязь стероидного метаболома мочи с течением адренокортикального рака. *Альманах клинической медицины.* 2023;51(3):143–153. doi: 10.18786/2072-0505-2023-51-018. Velikanova LI, Vorokhobina NV, Shafigullina ZR, Kalugina VV, Malevanaya EV, Strelnikova EG, Buinova MO, Lisitsyn AA, Kushlinskii NE. [The relationship between urine steroid metabolome and the course of adrenocortical cancer]. *Almanac of Clinical Medicine.* 2023;51(3):143–153. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2023-51-018.
- Velikanova LI, Shafigullina ZR, Lisitsyn AA, Vorokhobina NV, Grigoryan K, Kukhianidze EA, Strelnikova EG, Krivokhizhina NS, Krasnov LM, Fedorov EA, Sablin IV, Moskvina AL, Bessonova EA. Different Types of Urinary Steroid Profiling Obtained by High-Performance Liquid Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Patients with Adrenocortical Carcinoma. *Horm Cancer.* 2016;7(5–6):327–335. doi: 10.1007/s12672-016-0267-0.
- Arlt W, Biehl M, Taylor AE, Hahner S, Libé R, Hughes BA, Schneider P, Smith DJ, Stiekema H, Krone N, Porfiri E, Opocher G, Bertherat J, Mantero F, Allolio B, Terzolo M, Nightingale P, Shackleton CH, Bertagna X, Fassnacht M, Stewart PM. Urine steroid metabolomics as a biomarker tool for detecting malignancy in adrenal tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):3775–3784. doi: 10.1210/jc.2011-1565.
- Chortis V, Bancos I, Nijman T, Gilligan LC, Taylor AE, Ronchi CL, O'Reilly MW, Schreiner J, Asia M, Riestler A, Perotti P, Libé R, Quinkler M, Canu L, Paiva I, Bugalho MJ, Kastelan D, Dennedy MC, Sherlock M, Ambroziak U, Vassiliadi D, Bertherat J, Beuschlein F, Fassnacht M, Deeks JJ, Biehl M, Arlt W. Urine Steroid Me-
- tabolomics as a Novel Tool for Detection of Recurrent Adrenocortical Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3):e307–e318. doi: 10.1210/clinem/dgz141.
- Fassnacht M, Johanssen S, Quinkler M, Bucsky P, Willenberg HS, Beuschlein F, Terzolo M, Mueller HH, Hahner S, Allolio B; German Adrenocortical Carcinoma Registry Group; European Network for the Study of Adrenal Tumors. Limited prognostic value of the 2004 International Union Against Cancer staging classification for adrenocortical carcinoma: proposal for a Revised TNM Classification. *Cancer.* 2009;115(2):243–250. doi: 10.1002/cncr.24030.
- Weiss LM. Comparative histologic study of 43 metastasizing and nonmetastasizing adrenocortical tumors. *Am J Surg Pathol.* 1984;8(3):163–169. doi: 10.1097/00000478-198403000-00001.
- Великанова ЛИ, Стрельникова ЕГ, Объедкова ЕВ, Кривохижина НС, Шафигуллина ЗР, Григорян К, Поваров ВГ, Москвин АЛ. Получение стероидных профилей мочи больных с инцидентальной надпочечниковой методом газовой хромато-масс-спектрометрии. *Журнал аналитической химии.* 2016;71(7):775–781. doi: 10.7868/S0044450216070161. Velikanova LI, Strel'nikova EG, Obedkova EV, Krivokhizhina NS, Shafigullina ZR, Grigoryan K, Povarov VG, Moskvina AL. Generation of urinary steroid profiles in patients with adrenal incidentaloma using gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Chem.* 2016;71(7):748–754. doi: 10.1134/S1061934816070169.
- Shackleton CH, Neres MS, Hughes BA, Stewart PM, Kater CE. 17-Hydroxylase/C17,20-lyase (CYP17) is not the enzyme responsible for side-chain cleavage of cortisol and its metabolites. *Steroids.* 2008;73(6):652–656. doi: 10.1016/j.steroids.2008.02.001.
- Schiffer L, Barnard L, Baranowski ES, Gilligan LC, Taylor AE, Arlt W, Shackleton CHL, Storbeck KH. Human steroid biosynthesis, metabolism and excretion are differentially reflected by serum and urine steroid metabolomes: A comprehensive review. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019;194:105439. doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.105439.
- Chakraborty S, Pramanik J, Mahata B. Revisiting steroidogenesis and its role in immune regulation with the advanced tools and technologies. *Genes Immun.* 2021;22(3):125–140. doi: 10.1038/s41435-021-00139-3.
- Kroon J, Pereira AM, Meijer OC. Glucocorticoid Sexual Dimorphism in Metabolism: Dissecting the Role of Sex Hormones. *Trends Endocrinol Metab.* 2020;31(5):357–367. doi: 10.1016/j.tem.2020.01.010.



Association between full blood count and urine steroid metabolome in patients with adrenal masses

N.V. Vorokhobina¹ • V.V. Kalugina¹ • L.I. Velikanova¹ •
Z.R. Shafigullina¹ • E.V. Malevanaya¹ • A.A. Lisitsyn¹

Background: Endogenous hypercortisolism of adrenal origin is commonly associated with immune suppression. However, these patients also have signs characteristic of chronic inflammatory diseases. Better understanding of the mechanisms that alter the functioning of the immune system would allow for the development of a patient-centered approach to the treatment of corticotropin-independent endogenous Cushing's syndrome (CS).

Aim: To assess the association between full blood count and gas chromatography-mass spectrometry-based urinary steroid excretion in patients with adrenal masses depending on malignancy grade and presence of hypercortisolism.

Materials and methods: We retrospectively analyzed data from 42 patients with adrenal masses who had not received chemotherapy. The median age of the patients was 54 [Q25; Q75: 37; 63] years, and 76% of them were female. Preoperatively, all patients had hematology tests with differential leukocyte count. Steroid metabolome was assessed with Shimadzu GCMS-TQ8050 gas chromatography-mass spectrometer.

Results: Twelve (12) patients had adrenocortical cancer (ACC) and CS, 9 patients had ACC without CS, 11 had adrenocortical adenomas (ACA) and CS, and 10 patients had ACA without CS. ACC patients had a higher neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) than those with ACA: 3.35 [2.5; 6.3] vs 1.99 [1.41; 2.65] ($p = 0.001$). There was a linear correlation between NLR and serum cortisol levels after the 1 mg overnight dexamethasone suppression test ($r = 0.41$, $p = 0.01$), urinary excretion of 5 β -tetrahydrocortisol (5 β -THF) ($r = 0.71$, $p < 0.001$) and 11 β -hydroxyandrostosterone (11 β -OH-An) ($r = 0.74$, $p < 0.001$). The

ACC patients without CS had lower 5 β -THF urinary excretion values, compared to ACA with CS patients: 931 [616; 1610] and 3139 [1480; 4375] mcg/24h, respectively ($p = 0.007$). 11 β -OH-An urinary excretion in ACC patients without CS was higher than in ACA patients with CS: 1170 [806; 1266] и 602 [320; 739] mcg/24h ($p = 0.007$). The NLR cut-off value for adrenal mass malignancy in patients with CS exceeded 2.72 (sensitivity 90.0%, specificity 80.0%), and for the patients without hypercortisolism was above 1.92 (sensitivity 71.4%, specificity 100.0%).

Conclusion: This is the first association identification between NLR, which is the marker of systemic inflammation, inflammation, and urinary excretion of 11 β -OH-An, a metabolite of 11-hydroxyandrostenedione (a member of 11-oxygenated androgen family). This extends our understanding of the impact of hormonal activity of adrenal mass cells on the immune system.

Key words: adrenocortical cancer, Cushing's syndrome, urine steroid metabolome, gas chromatography-mass spectrometry, neutrophil-to-lymphocyte ratio

For citation: Vorokhobina NV, Kalugina VV, Velikanova LI, Shafigullina ZR, Malevanaya EV, Lisitsyn AA. Association between full blood count and urine steroid metabolome in patients with adrenal masses. Almanac of Clinical Medicine. 2024;52(3):140–148. doi: 10.18786/2072-0505-2024-52-004.

Received 12 February 2024; revised 25 March 2024; accepted 29 March 2024; published online 9 April 2024

Natalia V. Vorokhobina – MD, PhD, Professor, Head of Chair of Endocrinology named after academician V.G. Baranov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-105X>. E-mail: natvorokh@mail.ru

Valentina V. Kalugina – Postgraduate Student, Chair of Endocrinology named after academician V.G. Baranov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2812-6911>. E-mail: kaluginavav@gmail.com

Ludmila I. Velikanova – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Science and Research Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9352-4035>

✉ Ul. Kirochnaya 41, Saint Petersburg, 191015, Russian Federation. E-mail: velikanova46@gmail.com

Zulfiya R. Shafigullina – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Endocrinology named after academician V.G. Baranov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8292-8504>. E-mail: zula183@mail.ru

Ekaterina V. Malevanaya – PhD (in Chem.), Senior Research Fellow, Science and Research Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0880-0814>. E-mail: e.malevanaia@gmail.com

Aleksandr A. Lisitsyn – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Faculty Surgery named after I.I. Grekov¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2045-0044>. E-mail: 9213244516@mail.ru

Funding

The study was performed as a part of the State Task from the Ministry of Health of the Russian Federation No. 122012100080-3.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

N.V. Vorokhobina, analysis of clinical and experimental study results, text editing, approval of the final version of the manuscript; V.V. Kalugina, clinical data collection, statistical analysis, text writing; L.I. Velikanova, analysis of the study results, statistical analysis, text writing; Z.R. Shafigullina, clinical data collection, analysis of the results; E.V. Malevanaya, gas chromatography-mass spectrometry procedures and analysis of the data obtained; A.A. Lisitsyn, surgery of the patients with adrenal masses. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ul. Kirochnaya 41, Saint Petersburg, 191015, Russian Federation