



Оригинальная статья

Биомаркеры оценки результатов полихимиотерапии больных аденокортикальным раком на основании исследования стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии

Великанова Л.И.¹ • Ворохобина Н.В.¹ • Калугина В.В.¹ • Шафигуллина З.Р.¹ • Малеваная Е.В.¹ • Стрельникова Е.Г.¹ • Бохян В.Ю.²

Обоснование. Эффективность полихимиотерапии (ПХТ) в лечении аденокортикального рака (АКР) оценивается визуализирующими методами исследования по системе RECIST 1.1. Однако наличие субклинических очагов опухоли не позволяет объективно измерить истинную опухолевую массу. Ранее показано, что исследование стероидного метаболома методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) у больных АКР после хирургического лечения дает возможность установить ранние признаки нарушений адреналового стероидогенеза и рецидива аденокарциномы.

Цель – определить биомаркеры ответа на ПХТ у больных АКР после хирургического удаления опухоли на основании исследования стероидного профиля мочи методом ГХ-МС.

Материал и методы. Стероидные профили мочи исследованы методом ГХ-МС на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ8050 у 30 пациентов с АКР (II, III и IV стадии на этапе установления диагноза) после хирургического лечения и проведения ПХТ 1-й линии (комбинация эпопозида, доксорубина и цисплатина с ежедневным приемом митотана) и ПХТ 2-й линии (гемцитабин в сочетании с капецитабином и приемом митотана). Двадцать пять

больных с гормонально неактивной аденомой составили группу контроля.

Результаты. Ответ на ПХТ по критериям RECIST 1.1 получен у 23 пациентов (группа 1), прогрессирование АКР на фоне ПХТ зарегистрировано у 7 пациентов (группа 2). У больных группы 1 получено снижение экскреции с мочой этиохоланолона, прегнандиола и прегнантриола в сравнении с группой контроля. У больных группы 2 экскреция с мочой андрогенов, 5-ене-прегненов и тетрагидро-11-дезоксикортизола (THS) была увеличена в сравнении с показателями больных группы 1 и группы контроля. Получено повышение экскреции с мочой 3 β ,16,20-прегнантириола (3 β ,16,20-dP3) и снижение соотношения 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 у больных с прогрессированием АКР на фоне ПХТ в сравнении с показателями больных АКР с ответом на ПХТ. Установлена чувствительность и специфичность 100% ($p < 0,0001$) пороговых значений экскреции с мочой дегидроэпиандростерона (DHEA ≤ 469 мкг/сут; AUC = 1,0), THS (≤ 223 мкг/сут; AUC = 1,0) и 3 β ,16,20-dP3 (≤ 130 мкг/сут; AUC = 0,986), соотношения 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 ($\geq 2,13$; AUC = 1,0) для оценки эффективности ответа на ПХТ.

Заключение. Методом ГХ-МС получены различные стероидные профили мочи у больных АКР

с ответом на ПХТ и с прогрессированием заболевания на фоне ПХТ. Чувствительность и специфичность 100% пороговых значений экскреции с мочой DHEA, THS, 3 β ,16,20-dP3 и соотношения 3 α ,16,20-dP3/3 β ,16,20-dP3 для оценки результатов ПХТ указывают на возможность применения значений данных показателей в качестве биомаркеров ответа или прогрессирования заболевания у больных АКР в мониторинге проведения ПХТ.

Ключевые слова: аденокортикальный рак, полихимиотерапия, газовая хромато-масс-спектрометрия, стероидный профиль

Для цитирования: Великанова ЛИ, Ворохобина НВ, Калугина ВВ, Шафигуллина ЗР, Малеваная ЕВ, Стрельникова ЕГ, Бохян ВЮ. Биомаркеры оценки результатов полихимиотерапии больных аденокортикальным раком на основании исследования стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Альманах клинической медицины. 2024;52. doi: 10.18786/2072-0505-2024-52-008.

Поступила 08.02.2024; доработана 24.03.2024; принята к публикации 08.04.2024; опубликована онлайн 12.04.2024



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. Кирочная, 41, Российская Федерация. E-mail: velikanova46@gmail.com

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

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

Стрельникова Елена Геннадьевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории хроматографии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1208-8092>. E-mail: Istrelnikova@inbox.ru

Бохян Ваган Юрикович – д-р мед. наук, заведующий хирургическим отделением № 5 (эндокринной онкологии)²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9066-5190>. E-mail: v_bokhyan@kand.ru

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

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

Необходимость проведения адъювантного химиотерапевтического лечения больным адренокортикальным раком (АКР) диктуется частым (до 60–70%) рецидивированием заболевания после хирургического лечения. Местно-распространенный АКР, паллиативное хирургическое лечение, величина индекса пролиферации Ki-67 более 10% – факторы высокого риска рецидива опухоли. Согласно клиническим рекомендациям, таким больным необходимо назначение митотана в комбинации с гидрокортизоном [1, 2]. Определены факторы очень высокого риска прогрессирования заболевания: IV стадия АКР, наличие опухолевого тромбоза нижней полой вены, обширной инвазии сосудистого русла, а также величина Ki-67 более 19%. В данной клинической ситуации больным показано назначение полихимиотерапевтического лечения (ПХТ) 1-й линии этопозидом, цисплатином или карбоплатином (4–6 курсов) в сочетании с митотаном [3, 4].

Система RECIST 1.1 (англ. Response evaluation criteria in solid tumors) применяется для оценки эффективности ПХТ у больных АКР и включает следующие критерии: полный ответ, частичный ответ, прогрессирование заболевания, стабилизация заболевания [4, 5]. Измерению опухолевой ткани визуализирующими методами свойственна вариабельность и недостаточная точность, что может приводить к трудностям в оценке эффективности ПХТ с помощью критериев RECIST 1.1 [1].

Исследователями не определено ни одного надежного предиктивного маркера адъювантной терапии митотаном [5, 6]. Большинство работ направлено на оценку выживаемости больных

АКР с высоким риском рецидива после хирургического лечения в процессе применения адъювантной ПХТ. Выявление биомаркеров ответа на ПХТ у больных АКР является одной из важных проблем в мониторинге химиотерапевтического лечения, поскольку может дать понимание, объясняющее прогрессирование заболевания при стандартной химиотерапии, а также может предложить варианты терапии 2-й линии для улучшения как результатов ПХТ, так и качества жизни [7, 8].

Ранее нами было показано, что исследования стероидного профиля мочи (СПМ) методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) позволяют не только провести дифференциальную диагностику доброкачественных и злокачественных образований надпочечников, но и установить нарушения адреналового стероидогенеза и выявить признаки рецидива адренокарциномы на ранних стадиях заболевания [9, 10]. Таким образом, есть основания полагать, что исследование стероидного метаболома мочи методом ГХ-МС у больных АКР после хирургического лечения откроет новые возможности в поиске дополнительных биомаркеров ответа на химиотерапию.

Цель – определить биомаркеры ответа на ПХТ у больных АКР после хирургического удаления опухоли на основании исследования СПМ методом ГХ-МС.

Материал и методы

Обследовали 30 больных АКР, получивших в период с 2020 по 2023 г. хирургическое лечение и адъювантную ПХТ в Центре патологии надпочечников клиники им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»



Минздрава России, в хирургическом отделении № 5 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Набор пациентов в исследование был проспективным, проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (протокол № 8 от 11.11.2020), от каждого пациента получено согласие на участие в исследовании. Двадцать пять больных с гормонально неактивной аденомой (ГНА) без злокачественного потенциала по шкале L.M. Weiss составили группу контроля (ГК).

По данным компьютерной томографии органов брюшной полости с введением контрастного вещества в дооперационном периоде определяли локализацию первичной опухоли, ее максимальный размер, нативную плотность, наличие инвазии в окружающие ткани, скорость вымывания контрастного вещества. Наличие метастазов опухоли до хирургического лечения, прогрессирование заболевания, эффективность ПХТ (по системе RECIST 1.1) подтверждали на основании данных компьютерной томографии органов грудной и брюшной полостей, малого таза. В группу больных АКР с ответом на ПХТ включали обследованных с полным и частичным ответом по системе RECIST 1.1. Количество баллов по шкале L.M. Weiss определяли по данным патоморфологического исследования послеоперационного материала [1]. Оценку пролиферативной активности клеток опухоли проводили по результатам определения индекса Ki-67 методом иммуногистохимического анализа. Стадию заболевания устанавливали на основании результатов визуализирующих методов обследования и гистологического исследования по классификации ENSAT [11]. В исследование включены пациенты со II, III и IV стадиями заболевания на этапе установления диагноза с суммой баллов ≥ 4 по шкале L.M. Weiss. В исследование не включались пациенты с острыми инфекционными заболеваниями, острой сердечно-сосудистой патологией, тяжелыми психическими заболеваниями, беременные, принимающие комбинированные оральные контрацептивы, имеющие хроническую болезнь почек 3–5-й стадий, печеночную недостаточность.

В качестве первой линии цитотоксической ПХТ у больных с рецидивом опухоли на фоне монотерапии аденолитиком назначали ПХТ 1-й линии в комбинации этопозида, доксорубицина и цисплатина с ежедневным приемом митотана.

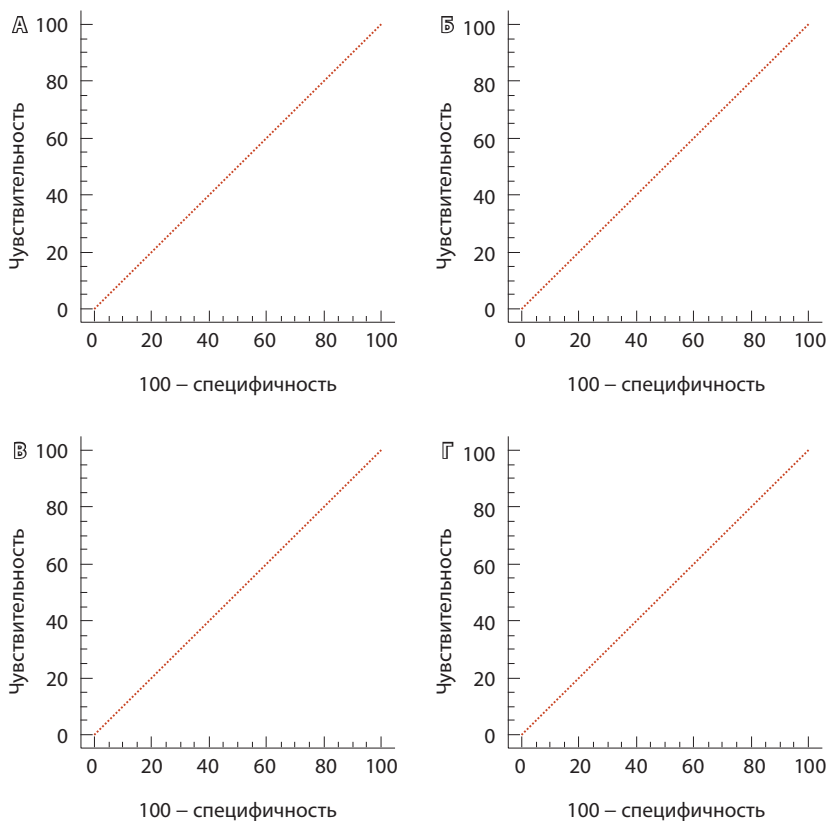
Прогрессирование АКР по критериям RECIST 1.1 после проведения 1-й линии ПХТ служило показанием для назначения 2-й линии ПХТ по следующей схеме: гемцитабин в сочетании с капецитабином и приемом митотана в дозе, обеспечивающей достижение целевых значений аденолитика в крови (14–20 мг/л). У пациентов с АКР с хорошим результатом полихимиотерапевтического лечения по критериям RECIST 1.1 наблюдали исчезновение всех дополнительных очагов и уменьшение размера лимфатических узлов (менее 1 см). Прогрессирование заболевания определяли как однозначную прогрессию дополнительных очагов, появление новых метастазов.

Всем больным АКР после хирургического лечения и проведения ПХТ и пациентам с ГНА проведено исследование СПМ методом ГХ-МС на хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS-TQ8050 в научно-исследовательской лаборатории хроматографии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России [12]. Метод позволяет определять экскрецию с мочой более 70 стероидов за один анализ.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программных пакетов Statistica (v.10.0). Для сравнения результатов использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Количественные характеристики обследованных представлены в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей [Q1; Q3]. Статистически значимым считали значение $p < 0,05$. При сравнении 3 групп статистически значимыми считали значения критерия $p < 0,017$ с учетом поправки Бонферрони. Чувствительность и специфичность рассчитана методом ROC (англ. receiver operating characteristic)-анализа (MedCalc Software) и площади под ROC-кривыми (AUC, англ. area under the curve).

Результаты

Больные АКР после хирургического лечения в зависимости от ответа на проведенное химиотерапевтическое лечение были разделены на 2 группы. В первую группу вошли 23 больных АКР с ответом на ПХТ: 2 больных со II стадией АКР, 14 – с III стадией и 7 – с IV стадией на этапе установления диагноза. Во вторую группу – с прогрессированием АКР на фоне ПХТ – были включены 7 пациентов с IV стадией АКР на этапе установления диагноза. В первой группе 15 больных получали ПХТ 1-й линии (от 2 до 6 циклов), 8 больных – ПХТ 1-й и 2-й линий. Во второй группе все



Чувствительность и специфичность пороговых значений экскреции с мочой дегидроэпиандростерона (А; чувствительность 100%, специфичность 100%, критерий ≤ 469), тетрагидро-11-дезоксикортизола (Б; чувствительность 100%, специфичность 100%, критерий ≤ 223), $3\beta,16,20$ -прегнентриола (В; чувствительность 100%, специфичность 100%, критерий ≤ 130) и соотношения $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3 (Г; чувствительность 100%, специфичность 100%, критерий $> 2,13$) для оценки результатов ответа на полихимиотерапию у больных аденокарциномой надпочечников после хирургического лечения

больные получали ПХТ 1-й и 2-й линии, но эффект по критериям RECIST 1.1 не был получен.

Пациенты из групп 1 и 2 не различались по таким показателям, как возраст, размер опухоли, индекс Ki-67 и количество баллов по шкале L.M. Weiss. Больные с ГНА (ГК) были сопоставимы по возрасту с больными АКР, однако размер опухоли у них был меньше (табл. 1).

Результаты исследования СПМ методом ГХ-МС представлены в табл. 2. У больных АКР с ответом на ПХТ получено снижение экскреции с мочой этиохоланолона (Et), прегнандиола (P2) и прегнантириола (P3) в сравнении с ГК. У больных без ответа на ПХТ получено повышение экскреции с мочой андрогенов: Et, дегидроэпиандростерона (DHEA) и его метаболитов (16-OH-DHEA, андростентриола (dA3), андростендиола-17 β (dA2-17 β) и 16-охо-dA2), P2, P3, 17-гидроксипрегнанола, 5-ене-прегненов (прегнандиола, $3\alpha,16,20$ -прегнентриола ($3\alpha,16,20$ -dP3) и $3\alpha,17,20$ -dP3) и тетрагидро-11-дезоксикортизола (THS) в сравнении с ГК и соответствующими показателями у пациентов с АКР с ответом на ПХТ (см. табл. 2).

У больных АКР 1-й и 2-й групп выявлена экскреция с мочой $3\beta,16,20$ -прегнентриола ($3\beta,16,20$ -dP3), не определяемая у больных ГНА без злокачественного потенциала. У больных АКР с ответом на ПХТ в сравнении с показателями больных АКР без ответа на ПХТ установлено снижение экскреции с мочой $3\beta,16,20$ -dP3 ($p = 0,0005$) и повышение соотношения $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3 до 3,56 (3,04–7,65) в сравнении с соотношением $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3, равным 1,32 (1,00–1,73),

Таблица 1. Клинические данные пациентов с гормонально неактивной аденомой и больных аденокарциномой надпочечников в зависимости от ответа на полихимиотерапию

Показатель, Me [Q1; Q3]	Больные АКР с ответом на ПХТ (n = 23)	Больные АКР с прогрессированием заболевания на ПХТ (n = 7)	Группа контроля (ГНА) (n = 25)	Значение p
	(1)	(2)	(К)	
Возраст, годы	44 [35; 61]	43 [29; 61]	50 [40; 61]	$p_{(1-К)} = 0,12$ $p_{(1-2)} = 0,46$ $p_{(2-К)} = 0,11$
М:Ж, абс.	6:17	2:5	7:18	
Размер образования, мм	89 [60; 99]	105 [75; 215]	25 [21; 30]	$p_{(1-К)} = 0,0001$ $p_{(1-2)} = 0,39$ $p_{(2-К)} = 0,001$
Ki-67, %	22 [13; 46]	35 [27; 50]	–	$p_{(1-2)} = 0,85$
Количество баллов по L.M. Weiss	4 [4; 8]	7 [6; 9]	0	$p_{(1-2)} = 0,45$

АКР – аденокарцинома надпочечников, ГНА – гормонально неактивная аденома, Ж – женщины, М – мужчины, ПХТ – полихимиотерапия



у больных с прогрессированием заболевания после ПХТ ($p = 0,002$).

По данным ROC-анализа получены пороговые значения экскреции с мочой DHEA ≤ 469 мкг/сут ($AUC = 1,0$), THS ≤ 223 мкг/сут ($AUC = 1,0$) и $3\beta,16,20\text{-dP3} \leq 130$ мкг/сут ($AUC = 0,986$), соотношения $3\alpha,16,20\text{-dP3}/3\beta,16,20\text{-dP3} \geq 2,13$ ($AUC = 1,0$) с чувствительностью

и специфичностью 100% ($p < 0,0001$) для оценки результатов ответа на ПХТ (рисунок).

Обсуждение

Персонализация ПХТ – важная задача лечения больных АКР, решение которой может способствовать увеличению эффективности данной терапии. Исследователи указывают на гетерогенность

Таблица 2. Экскреция с мочой основных биомаркеров аденокарциномы надпочечника после хирургического лечения и проведения полихимиотерапии по данным газовой хромато-масс-спектрометрии

Стероид, Me [Q1; Q3], мкг/сут	Больные АКР с ответом на ПХТ (n = 23)	Больные АКР с прогрессированием заболевания на ПХТ (n = 7)	Группа контроля (ГНА) (n = 25)	Значение p
	(1)	(2)	(К)	
Этиохоланолон (Et)	195 [81; 539]	1416 [1258; 3790]*	589 [360; 720]	$p_{(1-K)} = 0,004$ $p_{(2-K)} = 0,005$
Андростендиол-17 β (dA2-17 β)	41 [22; 121]	291 [129; 434]**	87 [45; 117]	$p_{(1-K)} = 0,23$ $p_{(2-K)} = 0,005$
Дегидроэпиандростерон (DHEA)	109 [23; 311]	1938 [1573; 8473]*	122 [47; 260]	$p_{(1-K)} = 0,95$ $p_{(2-K)} = 0,0004$
16 α -ОН-DHEA	231 [85; 486]	3200 [704; 11600]*	142 [36; 278]	$p_{(1-K)} = 0,29$ $p_{(2-K)} = 0,0007$
16-оксо-андростендиол (16-охо-dA2)	38 [11; 92]	279 [214; 436]*	25 [15; 45]	$p_{(1-K)} = 0,80$ $p_{(2-K)} = 0,012$
Андростентриол (dA3)	111 [54; 333]	2193 [546; 13047]*	142 [96; 279]	$p_{(1-K)} = 0,47$ $p_{(2-K)} = 0,002$
17-ОН-прегнанолон (17-ОНP)	98 [46; 210]	723 [184; 1150]**	197 [104; 267]	$p_{(1-K)} = 0,21$ $p_{(2-K)} = 0,029$
Прегнандиол (P2)	179 [73; 495]	839 [800; 1560]**	443 [270; 644]	$p_{(1-K)} = 0,021$ $p_{(2-K)} = 0,045$
Прегнантриол (P3)	289 [144; 780]	1965 [1605; 5223]*	635 [553; 812]	$p_{(1-K)} = 0,042$ $p_{(2-K)} = 0,013$
Прегнендиол (dP2)	210 [155; 770]	2455 [1441; 3625]*	516 [236; 761]	$p_{(1-K)} = 0,099$ $p_{(2-K)} = 0,004$
3 $\alpha,16,20$ -прегнентриол (3 $\alpha,16,20$ -dP3)	156 [37; 395]	1068 [570; 1137]*	136 [79; 210]	$p_{(1-K)} = 0,73$ $p_{(2-K)} = 0,005$
3 $\alpha,17,20$ -прегнентриол (dP3-3 α)	205 [125; 500]	4994 [1716; 10532]*	168 [131; 276]	$p_{(1-K)} = 0,23$ $p_{(2-K)} = 0,0002$
Тетрагидро-11-дезоксикортизол (THS)	110 [38; 359]	1310 [1076; 2220]*	78 [35; 111]	$p_{(1-K)} = 0,11$ $p_{(2-K)} = 0,0006$
3 $\beta,16,20$ -прегнентриол (3 $\beta,16,20$ -dP3)	40 [27; 90]	617 [378; 681]*	Не обнаружен	–

АКР – аденокарцинома надпочечника, ГНА – гормонально неактивная аденома, ПХТ – полихимиотерапия

* $p < 0,017$, ** $p < 0,005$ – статистическая значимость различий показателей больных АКР без ответа на ПХТ с показателями больных АКР с ответом на ПХТ

Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Калугина В.В., Шафигуллина З.Р., Малеваная Е.В., Стрельникова Е.Г., Бохан В.Ю.

Биомаркеры оценки результатов полихимиотерапии больных аденокарциномой надпочечника на основании исследования стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии



прогноза и чувствительности больных АКР к проводимой химиотерапии. Согласно результатам исследования Firm-АСТ, применение 1-й линии ПХТ по схеме EDP-M (этопозид, доксорубин, цисплатин в сочетании с митотаном) у больных с местно-распространенной опухолью или отдаленными метастазами АКР в послеоперационном периоде ассоциировано с длительностью беспрогрессивной выживаемости 5,1 месяца [13]. Опубликованы данные о больных с более длительным ответом на ПХТ [14]. С учетом различной эффективности и частого развития побочных эффектов выявление предиктивных маркеров химиотерапии позволит увеличить выживаемость с сохранением качества жизни больных с поздними стадиями АКР. Существующие трудности оценки ответа АКР на ПХТ с помощью визуализирующих методов обследования способствуют поиску новых методов определения эффективности данного лечения [15, 16].

Ряд авторов обращает внимание на важность применения методов хромато-масс-спектрометрии в дополнение к существующим способам мониторинга лечения АКР в послеоперационном периоде [9, 17]. В результате проведенных исследований методом ГХ-МС определены хроматографические признаки злокачественности объемного образования надпочечника, а также прогностические маркеры сниженной безрецидивной выживаемости у больных АКР в дооперационном периоде, получены биомаркеры рецидива опухоли после хирургического лечения [18–20].

Дополнительная информация

Финансирование

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

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Л.И. Великанова – анализ полученных результатов, статистическая обработка данных, написание текста; Н.В. Ворохобина – анализ

В настоящей работе впервые определены хроматографические биомаркеры ответа на ПХТ у больных АКР. К ним отнесены экскреция с мочой DHEA, THS и $3\beta,16,20\text{-dP3}$, а также значение соотношения $3\alpha,16,20\text{-dP3}/3\beta,16,20\text{-dP3}$, получена 100% чувствительность и специфичность их пороговых значений. Это дает основания предположить, что исследование стероидного метаболома мочи методом ГХ-МС может стать неинвазивным, удобным для пациента способом мониторинга химиотерапевтического лечения АКР.

Следующий этап нашей работы – изучение стероидного метаболома мочи больных в динамике химиотерапевтического лечения для выявления предиктивных маркеров терапии.

Заключение

Методом ГХ-МС получены различные СПМ у больных АКР с ответом и прогрессированием заболевания на ПХТ. Чувствительность и специфичность 100% пороговых значений экскреции с мочой DHEA, THS и $3\beta,16,20\text{-dP3}$, соотношения $3\alpha,16,20\text{-dP3}/3\beta,16,20\text{-dP3}$ для оценки эффективности ответа на ПХТ указывают на возможность применения данных биомаркеров в мониторинге проведения ПХТ. Таким образом, исследование СПМ методом ГХ-МС может стать дополнительным к существующим протоколам способом определения маркеров ответа аденокарцином на проведенное химиотерапевтическое лечение. ©

клинико-экспериментальных результатов исследования, редактирование рукописи, утверждение итогового варианта текста рукописи; В.В. Калугина – сбор клинического материала, написание текста; З.Р. Шафигуллина – разработка дизайна клинической части исследования, сбор клинического материала, анализ полученных данных, написание текста; Е.В. Малевая, Е.Г. Стрельникова – проведение исследований методом газовой хромато-масс-спектрометрии, анализ полученных результатов; В.Ю. Бохан – сбор клинического материала, анализ полученных данных. 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

1. Fassnacht M, Assie G, Baudin E, Eisenhofer G, de la Fouchardiere C, Haak HR, de Krijger R, Porziglia F, Terzolo M, Berruti A; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Adrenocortical carcinomas and malignant pheochromocytomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1476–1490. doi: 10.1016/j.annonc.2020.08.2099.
2. Fassnacht M, Dekkers OM, Else T, Baudin E, Berruti A, de Krijger R, Haak HR, Mihai R, Assie G, Terzolo M. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guidelines on the management of adrenocortical carcinoma in adults, in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol.* 2018;179(4):G1–G46. doi: 10.1530/EJE-18-0608.
3. Горбунова ВА, Бельцевич ДГ, Коломейцева АА, Бохан ВЮ, Мельниченко ГА, Переводчикова НИ, Феденко АА. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака коры надпочечника. Злокачественные опухоли. 2022;12(3s2-1):545–552. doi: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-545-552. Gorbunova VA, Bel'tsevich DG, Kolomeytseva AA, Bokhyan VYu, Mel'nichenko GA, Perev-



- odchikova NI, Fedenko AA. [Practical guidelines for medical treatment of adrenocortical cancer]. *Malignant Tumours*. 2022;12(3s2-1): 545–552. Russian. doi: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-545-552.
4. Гомболевский ВА, Лайпан АШ, Шапиев АН, Владимирский АВ, Морозов СП. Применение критериев ответа солидных опухолей на химиотерапевтическое лечение (RECIST 1.1). Серия «Лучшие практики лучевой и инструментальной диагностики». Вып. 8. М.; 2018. 15 с. Gombolevskiy VA, Laypan ASH, Shapiev AN, Vladimirskiy AV, Morozov SP. [The use of the Response Evaluation Criteria for Solid Tumors (RECIST 1.1)]. The “Best practice in radiological and instrumental diagnostics” series. 8th ed. Moscow; 2018. 15 p. Russian.
 5. Yoon SH, Kim KW, Goo JM, Kim DW, Hahn S. Observer variability in RECIST-based tumour burden measurements: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2016;53:5–15. doi: 10.1016/j.ejca.2015.10.014.
 6. Terzolo M, Fassnacht M. ENDOCRINE TUMOURS: Our experience with the management of patients with non-metastatic adrenocortical carcinoma. *Eur J Endocrinol*. 2022;187(3):R27–R40. doi: 10.1530/EJE-22-0260.
 7. Al-Ward R, Zsembery C, Habra MA. Adjuvant therapy in adrenocortical carcinoma: prognostic factors and treatment options. *Endocr Oncol*. 2022;2(1):R90–R101. doi: 10.1530/EO-22-0050.
 8. Millis SZ, Ejadi S, Demeure MJ. Molecular Profiling of Refractory Adrenocortical Cancers and Predictive Biomarkers to Therapy. *Biomark Cancer*. 2015;7:69–76. doi: 10.4137/BIC.S34292.
 9. Великанова ЛИ, Ворохобина НВ, Шафигуллина ЗР, Бохан ВЮ, Стилиди ИС, Калугина ВВ, Малеваная ЕВ, Стрельникова ЕГ, Кушлинский НЕ. Исследование стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии у больных адренокортикальным раком в динамике лечения. *Альманах клинической медицины*. 2021;49(4):277–284. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-041. Velikanova LI, Vorokhobina NV, Shafigullina ZR, Bokhian VY, Stilidi IS, Kalugina VV, Malevanaya EV, Strelnikova EG, Kushlinskii NE. [Study of urine steroid profiles by gas chromatography-mass spectrometry in patients with adrenocortical cancer in the course of treatment]. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(4):277–284. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-041.
 10. 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, Buianova 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.
 11. Fassnacht M, Johanssen S, Quinkler M, Bucky 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.
 12. Великанова ЛИ, Стрельникова ЕГ, Обьедкова ЕВ, Кривохижина НС, Шафигуллина ЗР, Григорян К, Поваров ВГ, Москвин АЛ. Получение стероидных профилей мочи больных с инциденталомой надпочечников 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.
 13. Fassnacht M, Terzolo M, Allolio B, Baudin E, Haak H, Berruti A, Welin S, Schade-Brittinger C, Lacroix A, Jarzab B, Sorbye H, Torpy DJ, Stepan V, Schteingart DE, Arlt W, Kroiss M, Leboulleux S, Sperone P, Sundin A, Hermsen I, Hahner S, Willenberg HS, Tabarin A, Quinkler M, de la Fouchardière C, Schlumberger M, Mantero F, Weismann D, Beuschlein F, Gelderblom H, Wilmink H, Sender M, Edgerly M, Kenn W, Fojo T, Müller HH, Skogseid B; FIRM-ACT Study Group. Combination chemotherapy in advanced adrenocortical carcinoma. *N Engl J Med*. 2012;366(23):2189–2197. doi: 10.1056/NEJMoa1200966.
 14. Laganà M, Grisanti S, Cosentini D, Ferrari VD, Lazzari B, Ambrosini R, Sardini C, Volta AD, Palumbo C, Poliani PL, Terzolo M, Sigala S, Tiberio GAM, Berruti A. Efficacy of the EDP-M Scheme Plus Adjunctive Surgery in the Management of Patients with Advanced Adrenocortical Carcinoma: The Brescia Experience. *Cancers (Basel)*. 2020;12(4):941. doi: 10.3390/cancers12040941.
 15. Laufs V, Altieri B, Sbiera S, Kircher S, Steinhauer S, Beuschlein F, Quinkler M, Willenberg HS, Rosenwald A, Fassnacht M, Ronchi CL. ERCC1 as predictive biomarker to platinum-based chemotherapy in adrenocortical carcinomas. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(2):181–188. doi: 10.1530/EJE-17-0788.
 16. Malandrino P, Al Ghuzlan A, Castaing M, Young J, Caillou B, Travagli JP, Elias D, de Baere T, Dromain C, Paci A, Chanson P, Schlumberger M, Leboulleux S, Baudin E. Prognostic markers of survival after combined mitotane- and platinum-based chemotherapy in metastatic adrenocortical carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2010;17(3):797–807. doi: 10.1677/ERC-09-0341.
 17. 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, Denny MC, Sherlock M, Ambroziak U, Vassiliadi D, Bertherat J, Beuschlein F, Fassnacht M, Deeks JJ, Biehl M, Arlt W. Urine Steroid Metabolomics as a Novel Tool for Detection of Recurrent Adrenocortical Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(3):e307–e318. doi: 10.1210/clinem/dgz141.
 18. 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.
 19. Velikanova LI, Shafigullina ZR, Lisitsin 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.
 20. Калугина ВВ, Ворохобина НВ, Великанова ЛИ, Шафигуллина ЗР, Малеваная ЕВ, Стрельникова ЕГ, Бохан ВЮ, Бритвин ТА, Кушлинский НЕ. Прогностические маркеры рецидива адренокортикального рака у больных после радикального хирургического лечения. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2023;15(2):57–67. doi: 10.17816/mechnikov233493. Kalugina VV, Vorokhobina NV, Velikanova LI, Shafigullina ZR, Malevanaya EV, Strelnikova EG, Bokhyan VY, Britvin TA, Kushlinskii NE. [Prognostic markers of recurrence in adrenocortical carcinoma patients after surgery]. *HERALD of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2023;15(2):57–67. Russian. doi: 10.17816/mechnikov233493.



Biomarkers for assessment of the polychemotherapy results in patients with adrenocortical cancer based on gas chromatography-mass spectrometry studies of urine steroid profiles

L.I. Velikanova¹ • N.V. Vorokhobina¹ • V.V. Kalugina¹ • Z.R. Shafigullina¹ • E.V. Malevanaya¹ • E.G. Strelnikova¹ • V.Yu. Bokhyan²

Background: The effectiveness of polychemotherapy (PCT) for adrenocortical cancer (ACC) is assessed by imaging tests with the RECIST 1.1 criteria. However, the presence of subclinical tumor foci does not allow for an objective measurement of the true tumor burden. As shown previously, post-operative assessment of the steroid metabolome by gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) in ACC patients makes it possible to identify early signs of adrenal steroidogenesis abnormalities and of the recurrence of adrenocortical carcinoma.

Aim: To identify biomarkers of response to PCT by GCMS study of the urine steroid profile in ACC patients after surgical resection of the tumor.

Materials and methods: Urine steroid profiles were studied by GCMS (Shimadzu GCMS-TQ8050 gas chromatography-mass spectrometer) in 30 ACC patients (stages II, III and IV) after surgery and first line (combination of etoposide, doxorubicin and cisplatin with daily mitotane) and second line (gemcitabine combined with capecitabine and mitotane) PCT. The control group included 25 patients with hormonally inactive adenomas.

Results: The response to PCT according to RECIST 1.1 criteria was obtained in 23 patients (Group 1, responders) and in 7 patients ACC progressed under PCT (Group 2, non-responders). In the responders, the urinary excretion of etiocholanolone, pregnanediol and pregnanetriol was lower than in the control group. The non-responders had higher urinary excretion of androgens, progestogens and tetrahydro-11-deoxycortisol (THS), compared to the responders and the control group. The patients with ACC progression under PCT had an increase in $3\beta,16,20$ -pregnenetriol ($3\beta,16,20$ -dP3) levels and

a decrease of the $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3 ratio, compared to those in the PCT responders. The threshold values for urinary excretion of dehydroepiandrosterone (DHEA, ≤ 469 mcg/24h; AUC = 1.0), THS (≤ 223 mcg/24h; AUC = 1.0), and $3\beta,16,20$ -dP3 (≤ 130 mcg/24h; AUC = 0.986), as well as the $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3 ratio (≥ 2.13 ; AUC = 1.0) had 100% sensitivity and specificity for the assessment of the PCT effectiveness.

Conclusion: Different urine steroid profiles were obtained by GCMS in the ACC patients after PCT with and without treatment response. The 100% sensitivity and specificity of the threshold values for urinary excretion of DHEA, THS, $3\beta,16,20$ -dP3 and the $3\alpha,16,20$ -dP3/ $3\beta,16,20$ -dP3 ratio for the assessment of PCT results indicate the potential to use these parameters as biomarkers of response or progression of the disease in the monitoring of PCT effects in ACC patients.

Key words: adrenocortical cancer, polychemotherapy, gas chromatography-mass spectrometry, steroid profile

For citation: Velikanova LI, Vorokhobina NV, Kalugina VV, Shafigullina ZR, Malevanaya EV, Strelnikova EG, Bokhyan VYu. Biomarkers for assessment of the polychemotherapy results in patients with adrenocortical cancer based on gas chromatography-mass spectrometry studies of urine steroid profiles. Almanac of Clinical Medicine. 2024;52. doi: 10.18786/2072-0505-2024-52-008.

Received 8 February 2024; revised 24 March 2024; accepted 8 April 2024; published online 12 April 2024

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

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

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

Elena G. Strelnikova – PhD (in Chem.), Senior Research Fellow, Science and Research Laboratory of Chromatography¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1208-8092>. E-mail: lstrelnikova@inbox.ru

Vahan Yu. Bokhyan – MD, PhD, Head of Surgical Department No. 5 (Endocrine Oncology)²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9066-5190>. E-mail: v_bokhyan@kand.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

L.I. Velikanova, analysis of the results, statistical analysis, text writing; 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, text writing; Z.R. Shafigullina, design of the clinical part of the study, clinical data collection, analysis of the results, text writing; E.V. Malevanaya and E.G. Strelnikova, gas chromatography-mass spectrometry procedures, analysis of the results; V.Yu. Bokhyan, clinical data collection, analysis of the data obtained. 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

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; Kashirskoe shosse 24, Moscow, 115522, Russian Federation