

ШУТОВА АЛЕКСАНДРА СЕРГЕЕВНА

**ТРАНСКРИПТОМНЫЕ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И
ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С
ПРОЛАКТИН-СЕКРЕТИРУЮЩИМИ АДЕНОМАМИ ГИПОФИЗА**

3.1.19. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: **Дзеранова Лариса Константиновна**
доктор медицинских наук, главный научный сотрудник
отделения нейроэндокринологии Федерального
государственного бюджетного учреждения «НМИЦ
эндокринологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Официальные оппоненты: **Демидова Татьяна Юльевна**
доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой
эндокринологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ
им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Калинин Павел Львович
доктор медицинских наук, профессор кафедры
нейрохирургии с курсами нейронаук, заведующий 8-м
нейрохирургическим отделением (базальные опухоли) ФГАУ
«НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава
России

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Российский университет
медицины» Министерства здравоохранения Российской
Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2024 года в ____ часов на
заседании диссертационного совета 21.1.045.01 в ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России по
адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д.11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный
медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России или
на сайте www.endocrincentr.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 года

Ученый секретарь диссертационного
совета, доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Пролактиномы - наиболее распространенные гормонально-активные аденомы гипофиза, составляющие около 40% всех объемных образований гипоталамо-гипофизарной области [Дедов И.И. и др., 2023]. Основным методом их лечения является медикаментозная терапия агонистами дофамина, которая в большинстве случаев позволяет добиться нормализации уровня пролактина в сыворотке крови и уменьшения размеров аденомы. Однако, около 20% пациентов с пролактиномами неудовлетворительно реагируют даже на высокие дозы агонистов дофамина, что обусловлено резистентностью к терапии [А. Valea и др., 2022; Дзеранова Л.К. 2020].

Следует отметить, что на сегодняшний день отсутствуют клинические предикторы резистентности пролактин-секретирующих аденом к медикаментозной терапии, а причины резистентности - предмет научной дискуссии. По имеющимся к настоящему времени литературным данным, проблема нечувствительности пациентов с пролактиномами к терапии не рассматривалась с точки зрения транскриптомных и фармакодинамических изменений. В то же время, пролонгирование срока неэффективной медикаментозной терапии приводит к прогрессированию патологических изменений, обусловленных гормональной гиперпродукцией и масс-эффектом аденомы гипофиза [Кобяков Г.Л., 2020; Burman P., 2023; Auriemma R.S., 2023]. Крайне важным является определение особенностей, присущих резистентности, выявление которых позволит своевременно провести коррекцию терапии, предотвратив развития осложнений. Кроме того, подробное изучение транскриптомных, молекулярно-генетических и фармакодинамических характеристик пациентов с пролактиномами необходимо для совершенствования алгоритмов обследования и определения тактики ведения.

Цель исследования

Изучить транскриптомные, молекулярно-генетические и фармакодинамические характеристики пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза для выявления факторов резистентности к терапии агонистами дофамина.

Задачи исследования

1. Проанализировать особенности клинической симптоматики у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина.
2. Изучить альтернативные пути фармакодинамики каберголина у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза.
3. Исследовать генетические аспекты пролактином, резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина.
4. Определить субпопуляции пролактин-секретирующих клеток, наиболее характерных для резистентных пролактином.
5. Разработать алгоритм персонализированного ведения пациентов на основании выполненных исследований.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы

Впервые выполнена оценка фармакодинамического профиля пролактин-секретирующих аденом гипофиза, исследованы детерминанты чувствительности и резистентности к медикаментозной терапии, проведен анализ клеточной гетерогенности пролактин-секретирующих аденом гипофиза и генетических изменений, характерных для резистентных пролактином. Также, впервые определен статус чувствительности пролактин-секретирующих аденом гипофиза к терапии с определением персонализированного алгоритма лечения пациентов на раннем этапе диагностики. Выявленные генетические, клеточные и фармакодинамические изменения, характерные для резистентных пролактином, позволяют приблизиться к пониманию общих патогенетических принципов резистентности и способствуют решению проблемы нечувствительности пациентов с пролактиномами к терапии. На основании проведенных исследований разработан алгоритм персонализированного ведения пациентов. Полученные данные позволяют расширить существующие стандарты обследования и лечения пациентов с пролактин-секретирующими аденомами, повысить качество и продолжительность их жизни.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор лично проводил набор участников исследования, сбор анамнеза, осуществлял осмотр и клинико-лабораторное обследование пациентов. Автор осуществлял сбор послеоперационного материала аденом гипофиза и проводил пробоподготовку ткани, необходимую для реализации методов молекулярной визуализации. Автором систематизированы и статистически обработаны полученные данные, подготовлены и опубликованы печатные работы в научно-практических журналах, рекомендованных перечнем ВАК, в которых отражены основные результаты исследовательской работы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Имеются характерные клинические, лабораторные, морфологические и топографо-анатомические характеристики пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных к терапии агонистами дофамина.
2. Выявлены фармакодинамические особенности, присущие пациентам с резистентностью к медикаментозной терапии. Определены 4 характерных паттерна резистентности, наличие которых обуславливает необходимость специфической коррекции лечения.
3. При выявлении совокупности особенностей, характерных для резистентности к терапии, на раннем диагностическом этапе требуется определение персонализированной тактики лечения, в соответствии с разработанным алгоритмом.
4. Для резистентных к терапии пролактином, в противоположность чувствительным, характерна активация экспрессии генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3* и ингибирование *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGC*, *TUBA3C*, *BRS3*. Определены дифференциально экспрессируемые гены, демонстрирующие аналогичные показатели по данным двух методов секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных

пролактином - *PROKR2, SEZ6L, GPR50*.

5. Выявлены присущие резистентным пролактиномам генные сигнатуры и особенности кластеризации типов клеток, свидетельствующие о детерминированности неблагоприятного фенотипа аденомы гетерогенностью клеточного состава. Определение особенностей, характерных как для резистентных и агрессивных пролактином, так и для других нейроэндокринных опухолей гипофиза, является основой для разработки таргетных методов терапии, в том числе с использованием CAR-T технологий.

Апробация результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 03 октября 2023 года на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии и детской эндокринологии-диабетологии Института высшего и дополнительного профессионального образования ГНЦ РФ - ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

В результате работы сформированы практические рекомендации, учтенные в проекте пересмотра клинических рекомендаций по гиперпролактинемии. Результаты работы представлены на IV (XXVII) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, Россия, 2021 г.), Международном Конгрессе остеопороза и остеоартрита «WCO IOF-ESCEO» (Лондон, Великобритания, 2021 г.), Европейском Конгрессе эндокринологов «ECE-2022» (Милан, Италия, 2022 г.), V Инновационном Петербургском Медицинском Форуме (Санкт-Петербург, Россия, 2022 г.), Конференции с международным участием по минеральному обмену и патологии околощитовидных желез «Эндокальций» (Москва, Россия, 2022 г.), 20-ом Конгрессе Европейской нейроэндокринной ассоциации «ЕНЕА 2022» (Лион, Франция, 2022 г.), Европейском Конгрессе эндокринологов «ECE-2023» (Стамбул, Турция, 2023 г.), X (XXIX) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва, Россия, 2023 г.), II Конференции по онкоэндокринологии и аутоиммунным эндокринным заболеваниям (Москва, Россия, 2023 г.), V Международной научно-практической школе «Single cell sequencing and analysis ASCA 2023 workshop» (Томск, Россия, 2023 г.)

Публикации

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 10 - в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 6 тезисов в сборниках российских конференций, 4 зарубежных тезиса.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 113 страницах, состоит из введения, 3 глав (обзора литературы, описания материалов и методов различных этапов исследования, описания собственных результатов, обсуждения результатов), выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиография включает 170 источников (из них 18 отечественных и 152 зарубежных). Работа иллюстрирована 22 рисунками и 34 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Работа, включающая 85 пациентов, представляет собой интервенционное, сравнительное, одномоментное исследование, состоящее из двух этапов. На первом исследованы две выборки: в одну включены пациенты с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, чувствительные к терапии агонистами дофамина, в другую - резистентные. Набор пациентов в группы проводился на основании соответствия критериям включения и при отсутствии критериев исключения. На данном этапе проводилось клиническое обследование пациентов, включавшее физикальное и лабораторные исследования, оценивались фармакодинамические характеристики с помощью разработанной пробы. По результатам сравнительного анализа построена математическая модель логистической регрессии и выполнен ROC-анализ с целью выделения «группы риска» по наличию резистентности к медикаментозной терапии среди общей выборки пациентов с пролактиномами. На основании полученных данных формировался наиболее оптимальный для каждого пациента алгоритм лечения. Второй этап работы включал в себя проведение молекулярно - генетического исследования у резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина пациентов для оценки характерных генетических особенностей и изучения клеточной гетерогенности опухоли. Анализ данных предполагал оценку результатов молекулярной визуализации и их сопоставление с клинко-лабораторными данными (таблица 1).

Таблица 1. Дизайн исследования

| Структура работы | Выборки пациентов | Исследования |
|------------------|--|--|
| 1 этап | Группа чувствительных пациентов (N=28) | <ul style="list-style-type: none"> Клиническая, лабораторно-инструментальная диагностика Оценка фармакодинамического профиля |
| | Группа резистентных пациентов (N=30) | |
| 2 этап | Группа чувствительных пациентов (N=15) | Методики молекулярной визуализации |
| | Группа резистентных пациентов (N=7) | |

Набор пациентов проводился на базе Государственного научного центра Российской Федерации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, директор - член-корреспондент РАН Н.Г. Мокрышева), в отделении нейроэндокринологии (зав. отделением – к.м.н. Е.Г. Пржиялковская) и на базе Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава

России, согласно протоколу № 24 от 24.11.2021 г.

Критерии соответствия

Интервенционное, сравнительное, одномоментное исследование, состоящее из двух этапов, проведено в период с 2021 по 2023 годы. Выборки сформированы сплошным способом, включались все наблюдения.

Критерии включения первого этапа работы: без различий по полу; возраст - 18 лет и старше; подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10); наличие/отсутствие критериев резистентности к терапии. Критерии исключения первого этапа работы: беременность, период грудного вскармливания, наличие феномена макропролактинемии.

Критерии включения второго этапа работы: без различий по полу; возраст - 18 лет и старше; подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10); проведенное нейрохирургическое вмешательство в объеме аденомэктомии, получение послеоперационного материала аденомы гипофиза в объеме, необходимом для применения методик молекулярной визуализации; наличие/отсутствие критериев резистентности к терапии. Критерии исключения второго этапа работы: беременность, период грудного вскармливания, наличие феномена макропролактинемии, отсутствие нейрохирургического вмешательства, невозможность получения необходимого объема послеоперационного материала аденомы гипофиза.

Клинико-лабораторное, инструментальное и морфологическое обследование

Схема первичного обследования включала сбор жалоб, анамнеза, измерения антропометрических параметров, оценку манифестации проявлений заболевания, методов и результатов лечения. В рамках сбора анамнеза уточнялось наличие хронических заболеваний, прием лекарственных препаратов и биодобавок, гинекологический анамнез у женщин. На этапе анализа полученных результатов определены клинические варианты течения заболевания, проведена оценка данных лабораторных и инструментальных методов обследования, анализ фармакодинамических данных пробы, сопоставление результатов молекулярно-генетического и фармакодинамического исследования с клиническими данными. Построена математическая модель логистической регрессии с ROC-анализом для выделения «группы риска» по наличию резистентности к медикаментозной терапии среди общей выборки пациентов с пролактиномами. Оценена возможность применения использованных молекулярно-генетических и фармакодинамических методов исследования для максимально раннего определения статуса чувствительности пациента к терапии, определения целесообразности интенсификации медикаментозной терапии, разработан алгоритм обследования и персонализированного лечения.

Определение концентраций гормонов в сыворотке крови (пролактин общий, пролактин биоактивный) выполнялось иммунохемилюминесцентным методом на автоматизированной системе Vitros 3600 (Johnson & Johnson, США). Определение содержания биологически активного мономерного пролактина проводилось с использованием преципитации с полиэтиленгликолем (ПЭГ- преципитации)

(Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария).

Магнитно–резонансная томография (МРТ) головного мозга с контрастным усилением (гадолиний) выполнялась на высокопольном магнитно-резонансном томографе General Electric 450 W мощностью 1,5 Тл. При распределении пролактин-секретирующих аденом по размеру использована классификация аденом гипофиза J. Hardy (1970 г.) в модификации С. Wilson (1979 г.).

Морфологический анализ включал гистологический и иммуногистохимический (ИГХ) методы, оценивались тинкториальные свойства опухоли, ее структура, наличие кровоизлияния, очагов некроза, фиброза, фигур митоза. ИГХ исследование выполнено с антителами к тропным гормонам (пролактин, СТГ, ЛГ, ФСГ, ТТГ, АКТГ), к рецепторам (D2-рецепторы, ССР2, ССР5, ЭР α), маркеру клеточной пролиферации Ki-67, маркеру ангиогенеза CD34.

Проведение двухэтапной фармакодинамической пробы

С целью идентификации индивидуальных фармакодинамических особенностей пациентов, а также для оценки терапевтического потенциала комбинированной медикаментозной терапии проведено измерение концентрации каберголина в сыворотке крови в ходе специфической двухэтапной фармакодинамической пробы.

Протокол пробы включает 2 последовательных этапа. На первом этапе, после предварительной 4-дневной отмены приема каберголина, выполняется измерение содержания каберголина в сыворотке крови (методом ВЖХМС/МС) до приема препарата, через 30-, 60-, 90-, 120 минут и 4-, 12-, 24 часа после приема 0,5 мг каберголина. Также определяется уровень пролактина в сыворотке крови до- и через 24 часа после приема каберголина.

Для оценки терапевтического потенциала комбинированной терапии (каберголин+гидроксихлорохин) нами разработан второй этап диагностической пробы. Выбор гидроксихлорохина в качестве адъювантного агента обусловлен его синергическим действием в отношении антисекреторного и антипролиферативного эффекта каберголина при совместном применении. По завершении первого этапа пробы осуществляется прием стандартной дозы (200 мг) гидроксихлорохина – 200 мг/сут, в течение 2 дней (в связи с коротким периодом T_{max} гидроксихлорохина – 1,83 ч), после чего повторно проводилась проба с каберголином в соответствии с вышеописанным протоколом.

Молекулярно-генетическое исследование

Профили экспрессии генов определялись с помощью кэп-анализа экспрессии генов (cap analysis gene expression, CAGE), метод включал получение и прочтение коротких (длина - 27 нуклеотидов) участков последовательности 5'-конца экзона РНК эукариот. Далее секвенированные последовательности картировались на референсный геном (HG38) для определения 5'-границ транскрибируемых областей и количественного анализа экспрессии. Секвенирование производили со средней глубиной покрытия от 70х, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10х – не менее 97%. Обработка проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека, постпроцессинг выравнивания, выявление и фильтрацию вариантов по качеству, а

также аннотацию по известным транскриптам каждого гена. Статистическая значимость разницы экспрессии между группами чувствительных и резистентных пролактином представлена частотой ложноположительных результатов (false discovery rate -FDR), рассчитанной на интегрированной базе данных. Для оценки аналогичных показателей экспрессии генов между двумя методами секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином использован порог FDR <0,22. При построении иерархической кластеризации на тепловых картах профилей экспрессии генов в качестве меры расстояния принято евклидово расстояние.

Статистический анализ

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica 13 (StatSoft, США). При анализе данных использовалось руководство по применению прикладных программ Statistica. Описательная статистика количественных признаков представлена с использованием медиан (Me) и интерквартильных интервалов [Q1; Q3], качественных признаков – абсолютными и относительными частотами.

Для сравнения независимых групп по количественным показателям использовался критерий Манна-Уитни, для зависимых - критерий Вилкоксона (W-тест). Частоты качественных признаков сравнивали при помощи критерия Хи-квадрат (χ^2) с проверкой его применимости. При необходимости применяли поправку Йетса. При наличии нулевых частот использовался двусторонний точный критерий Фишера.

Корреляционный анализ количественных параметров проводился с помощью метода Спирмена. Пороговым уровнем статистической значимости p считали 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости на определенное количество гипотез. Рассчитанные уровни значимости приведены в комментариях к таблицам с результатами.

Для построения математической модели логистической регрессии и выполнения ROC-анализа использован пакет прикладных программ SPSS Statistics v. 17.0 (SPSS: An IBM Company, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика пациентов с пролактиномами, резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина

В исследование включено 58 пациентов, госпитализированных в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в период с 01.10.2021 г. по 01.08.2023 г., клиническая характеристика представлена в таблице 2.

Таблица 2. Сравнение групп пациентов по первичным признакам

| Признак | Чувствительность к терапии | | Резистентность к терапии | | p |
|----------------------------------|----------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| | | Me [Q1; Q3] / n (%) | | Me [Q1; Q3] / n (%) | |
| Возраст постановки диагноза, лет | 8 | 35 [24,5; 45,5] | 0 | 26 [20; 33] | 0,020 ¹ |

| | | | | | | |
|---|--|---|--------------------|---|---------------------|--------------------|
| Пол | Муж | 8 | 14 (50%) | 0 | 12 (40%) | 0,444 ² |
| | Жен | | 14 (50%) | | 18 (60%) | |
| ИМТ, кг/м² | | 8 | 27,4 [23,8; 33,3] | 0 | 30,35 [21,0; 32,0] | 0,469 ¹ |
| Первый признак аменорея | Нет | 4 | 0 (0%) | 7 | 0 (0%) | 1,000 ³ |
| | Да | | 12 (86%) | | 16 (94%) | |
| | Менопауза | | 2 (14%) | | 1 (6%) | |
| Первый признак увеличение массы тела | Нет | 8 | 8 (29%) | 0 | 14 (47%) | 0,156 ² |
| | Да | | 20 (71%) | | 16 (53%) | |
| Первый признак гинекомасти я | Нет | 8 | 20 (71%) | 0 | 18 (60%) | 0,360 ² |
| | Да | | 8 (29%) | | 12 (40%) | |
| Первый признак галакторея | Нет | 8 | 12 (43%) | 0 | 11 (37%) | 0,630 ² |
| | Да | | 16 (57%) | | 19 (63%) | |
| Тяжесть галактореи | I степень | 6 | 6 (37,5%) | 9 | 10 (53%) | 0,310 ³ |
| | II степень | | 10 (62,5%) | | 8 (42%) | |
| | III степень | | 0 (0%) | | 1 (5%) | |
| Первый признак снижение либидо и потенции | Нет | 8 | 6 (21%) | 0 | 1 (3%) | 0,087 ⁴ |
| | Да | | 22 (79%) | | 29 (97%) | |
| Первый признак головная боль | Нет | 8 | 0 (0%) | 0 | 5 (17%) | 0,073 ⁴ |
| | Да | | 28 (100%) | | 25 (83%) | |
| Первый признак ухудшение зрения | Нет | 8 | 20 (71%) | 0 | 9 (30%) | 0,002 ² |
| | Да | | 8 (29%) | | 21 (70%) | |
| Характер ухудшения зрения | Битемпорально есужени | | 4 (50%) | 1 | 13 (62%) | 0,003 ³ |
| | Концентрическ оесужени | | 0 (0%) | | 8 (38%) | |
| | Двоение | | 0 (0%) | | 0 (0%) | |
| | Косоглазие | | 0 (0%) | | 0 (0%) | |
| | Птоз | | 0 (0%) | | 0 (0%) | |
| | Битемпоральное сужение идвоение | | 2 (25%) | | 0 (0%) | |
| | Битемпорально е сужение, двоение, косоглазие, птоз | | 2 (25%) | | 0 (0%) | |
| ПРЛ в дебюте, мЕд/л | | 8 | 20570 [3747;94340] | 0 | 10755 [5500; 21000] | 0,159 ¹ |
| ПРЛ на фоне медикаментозной терапии, мЕд/л | | 8 | 424,5 [300; 1009] | 0 | 6350 [2100; 16000] | 0,001 ¹ |

| | | | | | | |
|----------------------------|-----|---|----------|---|----------|---------------------|
| Оперативное лечение | Нет | 8 | 26 (93%) | 0 | 12 (40%) | <0,001 ⁴ |
| | Да | | 2 (7%) | | 18 (60%) | |

ПРЛ – пролактин

Поправка Бонферрони $p=0,05/15=0,003$

1 – U-test

2 – хи-квадрат

3 – точный критерий Фишера

4 – хи-квадрат с поправкой Йетса

В число наиболее распространенных клинических проявлений у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, как чувствительных, так и резистентных к лечению агонистами дофамина, входили снижение либидо, метаболические нарушения, в том числе – увеличение массы тела, головная боль и ухудшение зрения. В обеих группах, вне зависимости от статуса чувствительности к агонистам дофамина, в подавляющем большинстве случаев пациенты имели головную боль – 100 % (n=28) в случае чувствительности к терапии и 83% (n=25) в случае резистентности к терапии ($p=0,073$), а также снижение либидо - 79% (n=22) в случае чувствительности к терапии, 97% (n=29) в случае резистентности к терапии ($p=0,087$). Более, чем в половине всех случаев наблюдалось увеличение массы тела - 71% (n=20) в случае чувствительности и 53% (n=16) в случае резистентности к терапии ($p=0,156$), аналогичная картина отмечалась относительно галактореи – 57% (n=16) в случае чувствительности и 63% (n=19) в случае резистентности к терапии ($p=0,630$).

Морфологические и топографо-анатомические характеристики

резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом

Таблица 3. Сравнение групп чувствительных и резистентных пациентов по морфологическим характеристикам аденомы

| Признак | | Чувствительность к терапии | | Резистентность к терапии | | p |
|-----------------------|--------------|----------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|
| | | | Me [Q1; Q3] / n (%) | | Me [Q1; Q3] / n (%) | |
| Объем в дебюте, мм | | 8 | 6770 [472,5; 17544] | 0 | 1848 [540; 6930] | 0,331 ¹ |
| Аденома | Микроаденома | 8 | 4 (14%) | 0 | 7 (23%) | 0,587 ⁴ |
| | Макроаденома | | 24 (86%) | | 23 (77%) | |
| Гигантская аденома | Нет | 8 | 18 (64%) | 0 | 23 (77%) | 0,301 ² |
| | Да | | 10 (36%) | | 7 (23%) | |
| Инвазивность по KNOSP | Нет инвазии | 8 | 6 (21%) | 0 | 7 (23%) | <0,001 ² |
| | I степень | | 14 (50%) | | 2 (7%) | |
| | II степень | | 6 (21%) | | 2 (7%) | |
| | III степень | | 0 (0%) | | 6 (20%) | |
| | IV степень | | 2 (7%) | | 13 (43%) | |
| Эндоселлярный рост | Нет | 8 | 6 (21%) | 0 | 0 (0%) | 0,025 ⁴ |
| | Да | | 22 (79%) | | 30 (100%) | |
| Параселлярный рост | Нет | 8 | 24 (86%) | 0 | 1 (3%) | <0,001 ⁴ |
| | Да | | 4 (14%) | | 29 (97%) | |
| Инфраселлярный рост | Нет | 8 | 16 (57%) | 0 | 26 (87%) | 0,026 ⁴ |
| | Да | | 12 (43%) | | 4 (13%) | |
| Супраселлярный рост | Нет | 8 | 12 (43%) | 0 | 5 (17%) | 0,029 ² |
| | Да | | 16 (57%) | | 25 (83%) | |

| | | | | | | |
|-------------------------------------|--------|---|----------|---|-----------|---------------------|
| Ретроселлярный рост | Нет | 8 | 24 (86%) | 0 | 29 (97%) | 0,309 ⁴ |
| | Да | | 4 (14%) | | 1 (3%) | |
| Антеселлярный рост | Нет | 8 | 26 (93) | 0 | 30 (100%) | 0,229 ³ |
| | Да | | 2 (7%) | | 0 (0%) | |
| Инвазия в кавернозные синусы | Нет | 8 | 18 (64%) | 0 | 12 (40%) | 0,001 ³ |
| | Оба | | 2 (7%) | | 15 (50%) | |
| | Левый | | 4 (14%) | | 2 (7%) | |
| | Правый | | 4 (14%) | | 1 (3%) | |
| Кистозный компонент | Нет | 8 | 13 (46%) | 0 | 28 (93%) | <0,001 ⁴ |
| | Да | | 15 (54%) | | 2 (7%) | |

Поправка Бонферрони $p=0,05/12=0,004$

1 – U-test

2 – хи-квадрат Пирсона

3 – точный критерий Фишера

4 – хи-квадрат с поправкой Йетса

Среди всех пациентов, включенных в исследование, макроаденомы встречались в 81% (n=47), микроаденомы – в 19% (n=11) случаев. В группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина, частота наличия макроаденомы составила 77% (n=23), в группе чувствительных пациентов – 86% (n=24) ($p=0,587$). Среди макроаденом гипофиза в группе резистентных к агонистам дофамина пациентов в 23% (n=7) диагностирована гигантская аденома диаметром более 4 см, в группе чувствительных пациентов – в 36 % (n=10). Микроаденомы встречались в группе чувствительных пациентов в 14% случаев (n=4), в группе резистентных пациентов – в 23% случаев (n=7) ($p=0,301$). Таким образом, по данным проведенной работы отмечена тенденция к меньшему размеру пролактин-секретирующих аденом гипофиза у пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина. По данным анализа наибольшая вероятность резистентности к терапии была в случае инвазивности пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Так, в группе резистентных пациентов в большинстве случаев имеет место инвазивный характер роста пролактиномы IV степени по Knosp – 43% (n=13), в то время как в группе чувствительных пациентов этот показатель составляет только 7% (n=2). Напротив, минимальная инвазивность (I степень по Knosp) превалирует в группе чувствительных пациентов – 50% (n=14) против 7% (n=2) в группе резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов ($p<0,001$). В работе продемонстрировано увеличение вероятности резистентности к терапии при инвазии обоих кавернозных синусов. Отмечено преобладание инвазии обоих кавернозных синусов в группе резистентных к лечению агонистами дофамина пролактином – 50% (n=15) против 7% (n=2) в группе чувствительных пациентов ($p<0,004$). При анализе данных об особенностях роста пролактин-секретирующих аденом в отношении турецкого седла показана большая частота параселлярного распространения аденом в случае резистентности к терапии - резистентных пациентов частота параселлярного распространения составила 97% (n=29), в группе пациентов, чувствительных к терапии - 14% (n=4) ($p<0,001$). Продemonстрировано отличие чувствительных и резистентных к терапии пациентов по наличию кистозного компонента аденомы – в группе чувствительных пациентов этот параметр встречается в 54% (n=15), а в группе резистентных пациентов – лишь в 7% (n=2) ($p<0,001$), (таблица 3). Таким образом, наибольшая вероятность резистентности к терапии наблюдалась в случае сочетания больших размеров пролактин-секретирующей аденомы (10 и более мм), инвазивного роста, соответствующего II-IV степени инвазии в соответствии с

классификацией KNOSP, направлении роста в оба кавернозных синуса, пара- и супраселлярного характера распространения опухоли.

Основные лабораторные особенности у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом

Таблица 4. Уровень пролактина в сыворотке крови у чувствительных и резистентных к терапии пациентов в дебюте и на фоне лечения агонистами дофамина

| Признак | Чувствительность к терапии | | Резистентность к терапии | | p, U-test |
|---|----------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|-----------|
| | N | Me [Q1; Q3] / n (%) | | Me [Q1; Q3] / n (%) | |
| ПРЛ в дебюте, мЕд/л | 28 | 20570 [3747; 94340] | 0 | 10755 [5500; 21000] | 0,159 |
| ПРЛ на фоне медикаментозной терапии, мЕд/л | 28 | 424,5 [300; 1009] | 0 | 6350 [2100; 16000] | 0,001 |

ПРЛ – пролактин

Поправка Бонферрони $p=0,05/2=0,025$

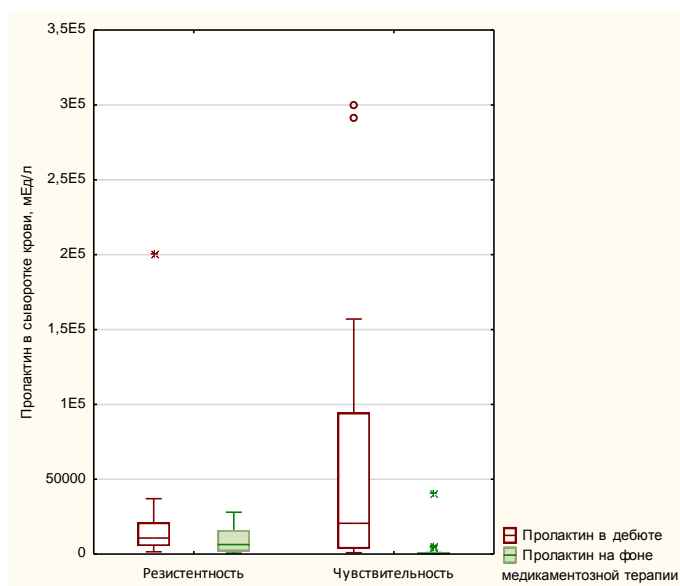


Рисунок 1. Уровень пролактина в сыворотке крови у чувствительных и резистентных к терапии пациентов в дебюте и на фоне лечения агонистами дофамина (количество пациентов, чувствительных к терапии – 28; количество пациентов, резистентных к терапии – 30)

Установлено, что в дебюте заболевания уровень пролактина в крови значимо выше у чувствительных, чем у резистентных к агонистам дофамина пациентов. Так, в группе чувствительных пациентов медиана уровня пролактина в сыворотке крови составила 20570 мЕд/л [3747; 94340], в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина - 10755 мЕд/л [5500; 21000] ($p=0,159$). При этом анализ показателя на фоне лечения демонстрирует обратную ситуацию: у резистентных пациентов уровень гиперпролактинемии статистически значимо выше: резистентные - 6350 мЕд/л [2100; 16000], чувствительные - 424,5 мЕд/л [300; 1009] ($p<0,001$, (таблица 4, рисунок 1). Исходно высокий уровень пролактина в сыворотке крови чувствительных к терапии пациентов может быть обусловлен спецификой включения в исследование – большую часть представляли пациенты, находящиеся на стационарном лечении, с ярко выраженной клинической картиной и многочисленными проявлениями заболевания. Однако на фоне продолжающейся терапии агонистами дофамина продемонстрирован значимо

более высокий уровень пролактина в сыворотке крови резистентных пациентов, чем у чувствительных, что соответствует клинико-лабораторным проявлениям заболевания у резистентных к терапии пациентов.

Обсуждение особенностей пациентов с пролактиномами, резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина

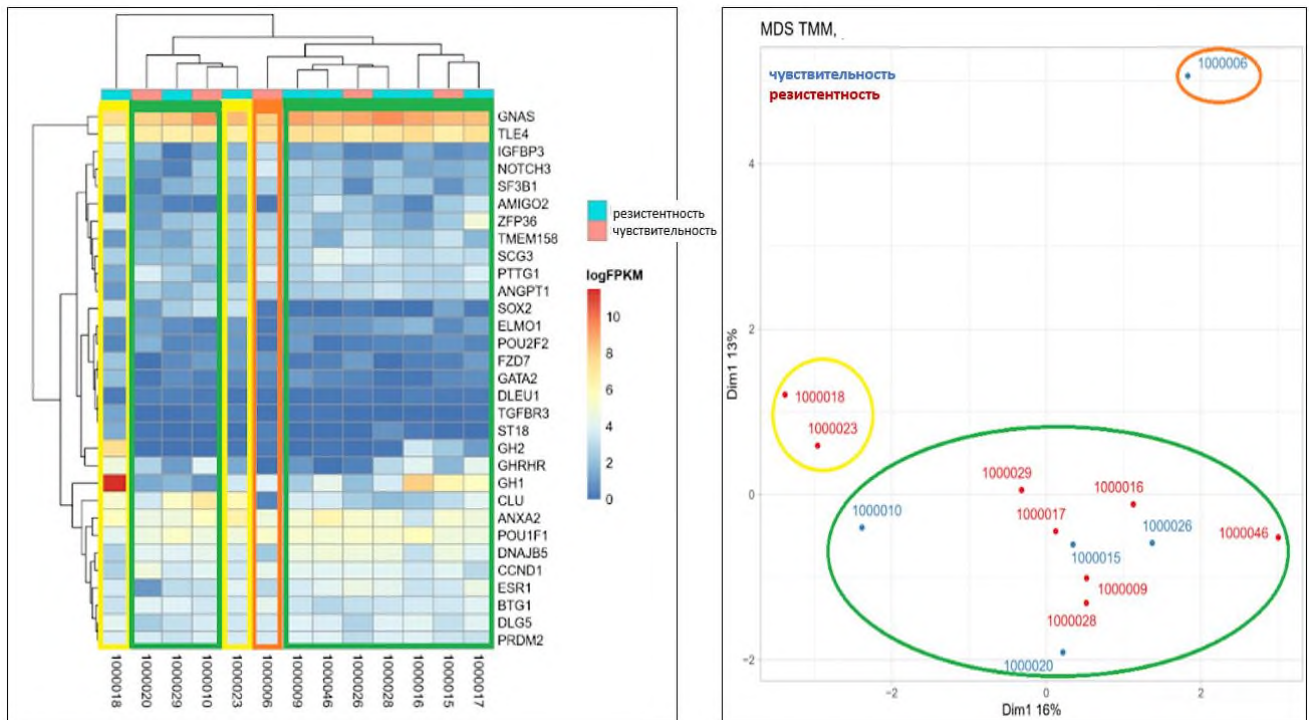
Проведено комплексное изучение клинико-лабораторных и морфологических особенностей пациентов. Соотношение мужчин и женщин в группе чувствительных и резистентных пациентов составило 1:1 и 1:1,5 соответственно. При сравнительном анализе возраста манифестации установлено, что резистентные к терапии пациенты в среднем имели на 9 лет более ранний дебют заболевания, чем чувствительные к терапии. Вероятно, это обусловлено наличием признаков агрессивности резистентных к терапии пролактином и большей выраженностью клинической симптоматики у данной группы пациентов.

Основные клинические проявления пролактином обусловлены гормональной гиперпродукцией и масс-эффектом опухоли. Наиболее распространенными проявлениями у резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов были нарушение зрения и головная боль. Наличие этих симптомов коррелирует с морфологическими и топографо-анатомическими характеристиками – в работе показано, что резистентные пролактиномы обладают признаками агрессивности роста: характеризуются большой частотой пара- (97% против 14% в случае чувствительности к терапии) и супраселлярного распространения (83% против 57% соответственно) и более высокой степенью инвазии – в соответствии с классификацией KNOSP IV степень инвазии выявлена в 37% случаев резистентности и только в 7% случаев чувствительности к терапии. Преимущественное параселлярное распространение обусловлено как морфологическими, так и эмбриогенетическими особенностями пролактином – в ходе дифференцировки ткани гипофиза лактотрофы располагаются преимущественно в области заднебоковых отделах гипофиза, непосредственно прилегающих к границе с кавернозными синусами, что обуславливает распространение аденомы в этом направлении.

В работе показано, что наличие кистозного компонента пролактин-секретирующей аденомы не характерно для пациентов с резистентностью к терапии агонистами дофамина.

Таким образом, по результатам работы выявлен комплекс характерных особенностей, играющих предиктивную роль в отношении резистентности пролактином к терапии: более молодой возраст манифестации, признаки агрессивности роста, преобладание в структуре проявлений заболевания ухудшения зрения. Выявление совокупности данных характеристик свидетельствует о высокой вероятности резистентности к терапии и определяет необходимость пересмотра тактики лечения.

Генетические характеристики резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом



А

Рисунок 2 А, Б

А - тепловая карта уровней экспрессии генов потенциально таргетных для диагностики и лечения пролактин-секретирующих аденом гипофиза.

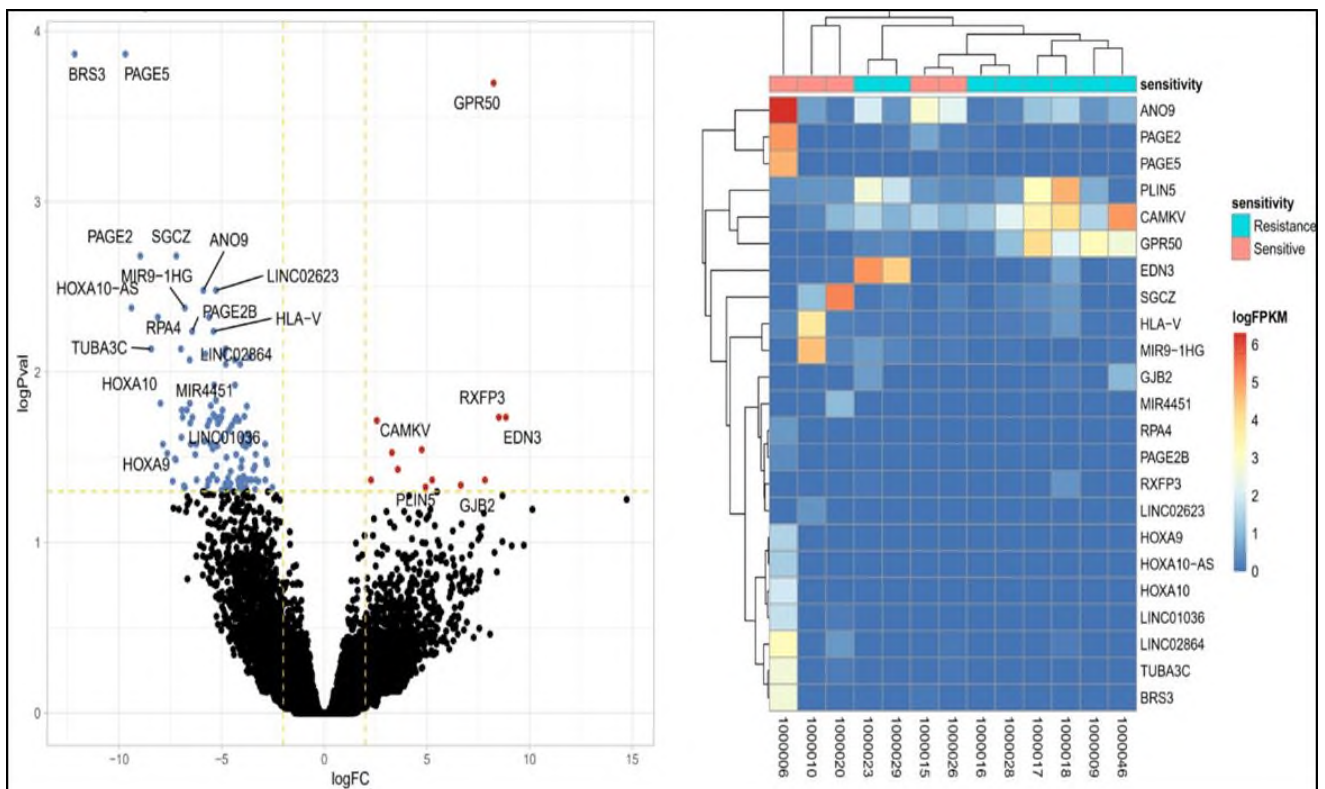
Б - многомерное масштабирование образцов пролактином (MDS - multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). Построение на основании данных Bulk RNA-seq.

Б

Молекулярно-генетическое исследование выполнено 27 пациентам, из них критериям валидности молекулярной визуализации по качеству и воспроизводимости результатов соответствовали 13 образцов пролактин-секретирующих аденом гипофиза, среди которых было 8 резистентных и 5 чувствительных к медикаментозной терапии агонистами дофамина. Секвенирование всех образцов пролактином проведено с помощью двух базисных методов РНК-секвенирования - Bulk-RNA-sequencing (RNA-seq/Bulk-RNA-seq) и CAGE-sequencing (CAGE-seq, cap analysis of genes expression).

Первоначально использован метод Bulk-RNA-sequencing, выявлена вариабельность экспрессии генов, формирующая паттерн, характерный для каждой из групп пролактин-секретирующих аденом: как чувствительных, так и резистентных к терапии. Определены группы генов, отличающихся высокими показателями экспрессии в группе резистентных пролактином и сравнительно низкой экспрессией – в группе пролактином, чувствительных к терапии. Проведен анализ профилей экспрессии генов в 13 образцах пролактин-секретирующих аденом, обнаружено, что во всех образцах пролактином, вне зависимости от статуса чувствительности к медикаментозному лечению, отмечены высокие показатели экспрессии генов *GNAS* и *TLE4*, а также *ANXA2* и *POU1F1* (Рисунок 2,А). Обращает на себя внимание повышенная экспрессия гена *GH1* в трех

образцах пролактином (Рисунок 2, А, образцы 1000016, 1000017, 1000018), относящихся к группе резистентных опухолей. При анализе клинической картины пациентов, от которых получены указанные образцы, выявлены признаки агрессивного роста аденом: экстракapsлярное распространение, инвазия кавернозных синусов, прогрессирующее увеличение размеров. Кроме того, отмечен один образец (Рисунок 2, А, образец 1000015), демонстрирующий высокую экспрессию гена *GHI*, однако относящийся к группе пролактином, чувствительных к терапии. Особенностью данного пациента также является тенденция к быстрому росту и инвазии в близлежащие структуры. Таким образом, по данным РНК-секвенирования методом Bulk-RNA-sequencing выявлено наличие характерных изменений, присущих пролактин-секретирующим аденом гипофиза, вне зависимости от их пролиферативной и секреторной активности.



А
Рисунок 3 А, Б.

А - Вулканическая диаграмма. Красные точки обозначают гены, экспрессия которых значительно повышена, синие - гены, экспрессия которых значительно снижена ($|\log_2 FC| \geq 1$ и $FDR < 0,01$), а черные - незначительные дифференциально экспрессируемые гены.

Б - Тепловая карта уровней дифференциально экспрессируемых генов пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Построение на основании данных Bulk RNA-seq.

По данным дифференцированного анализа экспрессии генов выявлено, что в образцах пролактином, резистентных к терапии, отмечается активация экспрессии ряда генов: *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2* и выраженное ингибирование экспрессии генов *PAGE2*, *SGCZ*, *ANO9*, *HOXA10-AS*, *TUBA3C*, *HOXA10*, *HOXA9*, *MIR4451*, *LINC01036*, *HLA-V*, *BRS3*, *PAGE5* (Рисунок 3, Б). В случае чувствительности к

терапии обнаружена преобладающая активация следующих генов: *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGCZ*, *HLA-V*, *MIR9-1HG*, *LIN01036*, *TUBA3C*, *BRS3* (Рисунок 3, Б). Отмечено ингибирование экспрессии генов: *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2* (Рисунок 3, Б).

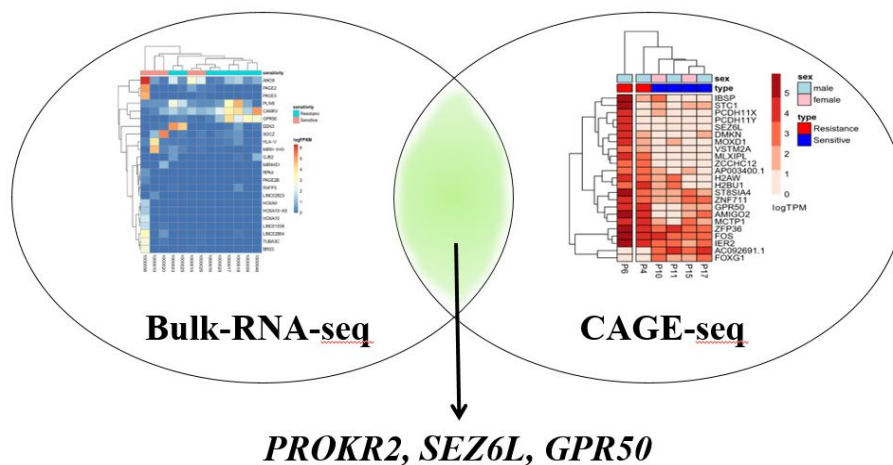


Рисунок 4. Гены, демонстрирующие аналогично высокие показатели экспрессии по данным двух методов секвенирования Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing.

После анализа данных Bulk-RNA-sequencing был применен метод CAGE-sequencing, позволяющий таргетно оценить генетические характеристики ткани в промоторной области – месте начала транскрипции.

С помощью метода транскриптомного совмещения (transcriptomics superposition method, TSM) были интегрированы данные секвенирования Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing. Это позволило выявить три гена, безусловно совпадающих по показателям экспрессии – гены *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50* характеризуются значительно высокой сравнительной экспрессией при анализе обоими методами секвенирования (Рисунки 4, 5).

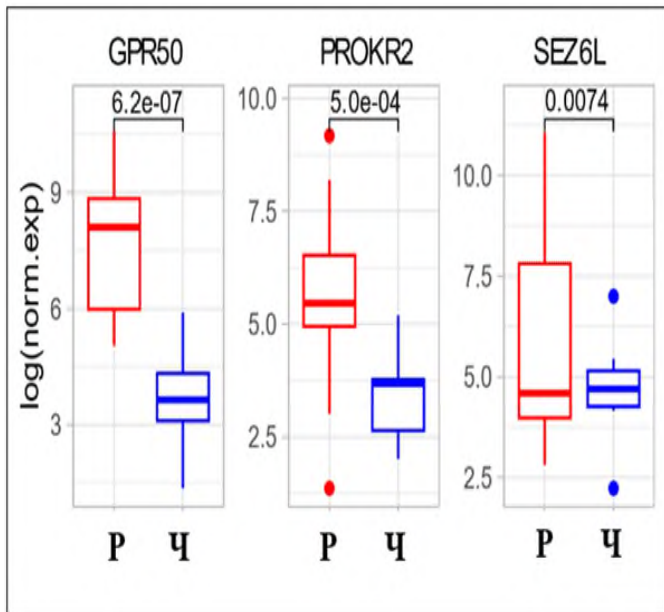


Рисунок 5. Показатели экспрессии избранных генов, имеющих аналогично высокие показатели экспрессии по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином. Р – резистентные пролактиномы, Ч – чувствительные пролактиномы.

Аннотация генов, имеющих аналогично высокие показатели экспрессии в группах резистентных и чувствительных пролактином представлена в таблице 5.

Таблица 5. Аннотация функций генов, имеющих аналогично высокие показатели экспрессии по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing.

| | |
|----------------------|---|
| <i>GPR50</i> | Ген кодирует регуляторный белок, ингибирующий функцию рецептора мелатонина. У человека имеются два мембранных рецептора мелатонина — MTNR1A (MT1), экспрессирующийся на клетках передней доли гипофиза и MTNR1B (MT2), обнаруженный в сетчатке и в легких. Нарушения реципрокных связей мелатонина с его рецепторами, в частности с гипофизарным MTNR1A, ассоциировано с усиление секреторной и митотической активности лактотрофов гипофиза, что, в совокупности с пролиферативным преимуществом, обуславливает возникновение опухолей данной области. |
| <i>PROKR2</i> | Ген кодирует мембранный G-белок прокинетин, стимулирующий ангиогенез, экспрессия выражена в ткани головного мозга, передней доли гипофиза. |
| <i>SEZ6L</i> | Ген кодирует регуляторные белки, усиливающие пролиферативную активность, путем активации сигнального пути фермента протеин-киназы C (PKC). PKC усиливает активность процессов фосфорилирования, увеличивает проницаемость клеточных мембран, тем самым способствуя активации пролиферативных процессов в опухоли и ее инвазии в окружающие ткани. |

С целью оценки топографии генетических изменений пролактином в контексте клеточного разнообразия опухоли проведен анализ клеточной гетерогенности, векторов развития и трансформации клеток методом секвенирования единичных клеток (single-cell sequencing) (Рисунок 6).

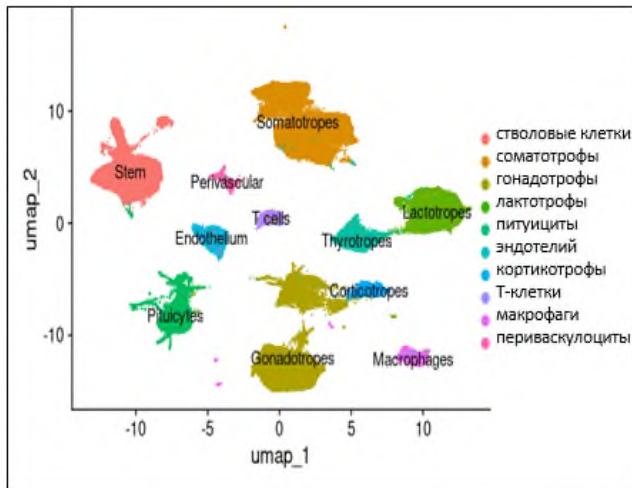


Рисунок 6. Интегрированный scRNAseq образцов пролактиномы, нормального гипофиза и референсного датасета (REF). Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (79604 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа

Показано, что имеется четкая дифференцировка на типы клеток и их закономерная стереотипная кластеризация. Демонстрируемые данные свидетельствуют о валидности проведенного анализа и пригодности анализируемого материала для таргетных исследований.

На следующем этапе проведена клеточная кластеризация в образце ткани относительно здорового гипофиза, продемонстрирована корректная кластеризация клеток гипофиза. Отмечается выраженная коннекторная линия между клеточными типами соматотрофов, лактотрофов и стволовых клеток, с частичной представленностью единичных клеток каждого из типов внутри соседних кластеров данной группы клеток. Выявленные особенности коррелируют с эмбриогенетическими механизмами дифференцировки клеток аденогипофиза, в соответствии с которыми имеются общие ключевые транскрипционные факторы (важнейший из которых – Pit-1), детерминирующие развитие лакто- и соматотрофов (рисунок 7).

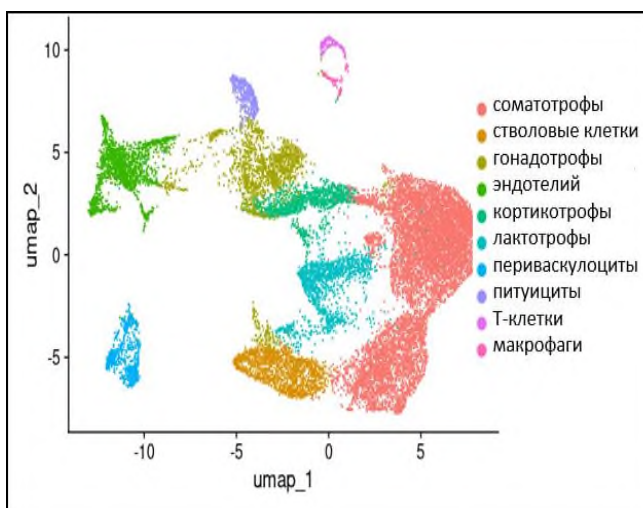


Рисунок 7. scRNAseq dataset образца нормального гипофиза. Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (16456 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа.

По данным анализа секвенирования единичных клеток образца пролактиномы, резистентной к терапии показано, что клетки опухолевой ткани объединяются в стереотипные группы, демонстрирующие коннекторные связи между популяциями клеток. Однако отмечены особенности, не имеющие место в случае относительно здорового гипофиза и не обнаруженные на примере интегрированного образца. Так, выявлена большая относительно других клеточной типов, представленность стволовых клеток, отражающих потенциал

дифференцировки, а также иммунных клеток - Т-лимфоцитов, макрофагов (Рисунок 8).

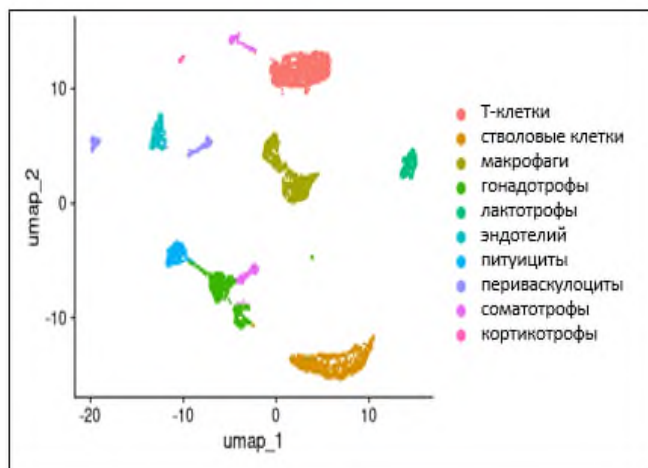


Рисунок 8. scRNAseq dataset образца пролактиномы. Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (5490 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа.

Проведен анализ обогащения набора генов (ОНГ), характеризующих фенотип опухоли (Рисунок 9). Выявлена стереотипная гетерогенность генетического ландшафта пролактином, соответствующая характерным генным сигнатурам. Каждая из генных сигнатур детерминирует фенотипическую реализацию определенного признака. В нашем исследовании в группе пациентов, резистентных к терапии, выявлена преобладающая экспрессия генных сигнатур, ассоциированных с агрессивностью опухоли, нарушением процесса репарации ДНК с преимущественным поддержанием процессов повреждения нуклеиновых кислот, наличием гипоксии, тенденцией к инвазивному росту. Все указанные характеристики свидетельствуют о молекулярно-генетическом подтверждении преобладания негативных про-пролиферативных процессов, характерных для резистентных пролактином.

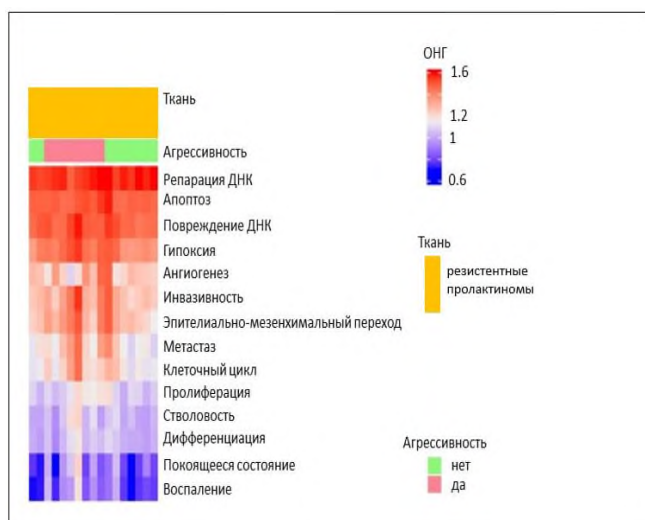


Рисунок 9. Обогащение набора генов ассоциированных с репарацией ДНК, апоптозом, повреждением ДНК, гипоксией, ангиогенезом, инвазивностью, эпителиально-мезенхимальным переходом, метастазом, клеточным циклом, пролиферацией, стволовостью, дифференциацией, состоянием покоя, воспалением. Расчет ОНГ проводился для образцов пролактином гипофиза.

Выявлены генетические изменения, характерные для пролактин-секретирующих аденом, резистентных к терапии и проявляющих признаки

агрессивности роста. Отмечается противоположная экспрессия определенных генов в образцах чувствительных и резистентных пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Так, в случае резистентности к терапии активирована экспрессия генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3*. Экспрессия этих же генов ингибирована в случае чувствительных пролактином. Напротив, в образцах пролактином, чувствительных к медикаментозной терапии, выявлена активация экспрессии ряда генов: *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGC*, *TUBA3C*, *BRS3*. Экспрессия всех обнаруженных генов подавлена в образцах резистентных к терапии пролактин-секретирующих аденом. Обнаруженные генетические нарушения подтверждены в результате применения двух различных методов анализа молекулярной визуализации - многомерного масштабирования и вулканического анализа, взаимно усиливающих и дополняющих друг друга. Также использован метод транскриптомного совмещения (transcriptomics superposition method), интегрирующий данные двух методов секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing. Результатом стало сужение круга «генов интереса» среди уже выделенных в качестве дифференциально экспрессируемых и потенциально таргетных генов. Выявлено три гена - *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50*, демонстрирующих конкордантно высокую экспрессию в случае резистентности к терапии. При анализе функции данных генов и кодируемых ими белков отмечается их синергизм в отношении детерминации неблагоприятного вектора развития опухоли: их действие заключается в увеличении секреторной и митотической активности клеток, усилении ангиогенеза, что определяет про-пролиферативный эффект и склонность к инвазии окружающих тканей. Полученные интегрированные данные секвенирования единичных клеток демонстрируют единообразие и типичность кластеризации клеток, соотносимую между всеми исследуемыми образцами. При этом, выявляются особенности клеточного состава, характерные именно для резистентной группы опухолей – преимущественное наличие стволовых клеток, обнаружение большего числа иммунных клеток: Т-лимфоцитов и макрофагов. Результаты свидетельствуют о возможности полноценного использования метода секвенирования единичных клеток в контексте изучения пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Более того, целесообразно углубленное изучение и уточнение состава клеточных ансамблей опухолей, определение их пространственно-временных соотношений для определения диагностических маркеров и мишеней таргетной терапии. Выявленные по данным секвенирования единичных клеток и анализа обогащения набора генов характерные генные сигнатуры и их дифференциальная экспрессия в образцах пролактином пациентов, резистентных и чувствительных к терапии, свидетельствуют о детерминированности агрессивного, резистентного фенотипа аденомы ее клеточной гетерогенности. Обнаруженные по данным РНК-секвенирования и секвенирования единичных клеток генетические особенности, вариабельность экспрессии определенных генов, гетерогенные клеточные характеристики являются перспективными мишенями адъювантного лечения и основой разработки методов ранней диагностики.

Полученные транскриптомные и молекулярно-генетические данные открывают возможности дальнейших протеомных исследований резистентных аденом гипофиза с построением интерактома, включающего пути межклеточной трансдифференцировки, особенности клеточного и иммунного микроокружения

опухоли и его влияния на пролиферативные и регуляторные процессы аденомы.

Построение математической модели логистической регрессии и выполнения ROC-анализа предикторов резистентности пролактином в медикаментозной терапии агонистами дофамина

По результатам сравнительного анализа морфологических характеристик аденом выделены статистически значимо различающиеся факторы, позволяющие дифференцировать группы пациентов: инвазивность аденомы по KNOSP (0 – инвазия отсутствует, I степень, II степень, III степень, IV степень), параселлярный характер распространения (0 – нет, 1 – да), наличие кистозного компонента (0 – нет, 1 – да). С целью прогнозирования резистентности к терапии и выделения «группы риска» по наличию резистентности к медикаментозной терапии среди общей выборки пациентов с пролактиномами, для последующего проведения им фармакодинамической пробы, использована модель бинарного выбора — логистическая регрессия. В качестве отклика (прогнозируемого признака) использовался ответ на терапию: чувствительность или резистентность. Размер выборки составил 58 пациентов (чувствительных пациентов – 28, резистентных – 30). В результате было получено уравнение логистической регрессии:

$$P = \frac{e^y}{1 + e^y}, (1)$$

где P — вероятность того, что произойдет интересующее событие, e — основание натурального логарифма 2,71,

$$y = 0,635x_1 + 5,022x_2 - 2,008x_3 - 3,876,$$

где x_1 – инвазивность аденомы; x_2 – параселлярный характер распространения; x_3 – наличие кистозного компонента.

Матрица классификации чувствительных и резистентных к терапии пациентов с использованием полученной модели представлена в таблице 6.

Таблица 6. Матрица классификации модели логистической регрессии

| | | Результат исследования | |
|---------------------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | | Резистентность к терапии | Чувствительность к терапии |
| Результат предсказания моделью | Резистентность к терапии | 29 | 1 |
| | Чувствительность к терапии | 3 | 25 |

Операционные характеристики модели показали высокую классификационную способность: диагностическая чувствительность (ДЧ) 91%, 95% ДИ [80%; 94%]; диагностическая специфичность (ДС) 96%, 95% ДИ [83%; 100%]; прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) 97%, 95% ДИ [86%; 100%]; прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР) 89%, 95% ДИ [77%; 93%].

Для графического изображения диагностической способности модели построена ROC-кривая (Рисунок 10), которая отображает чувствительность и специфичность модели логистической регрессии. Площадь под кривой составила $AUC = 0,954$.

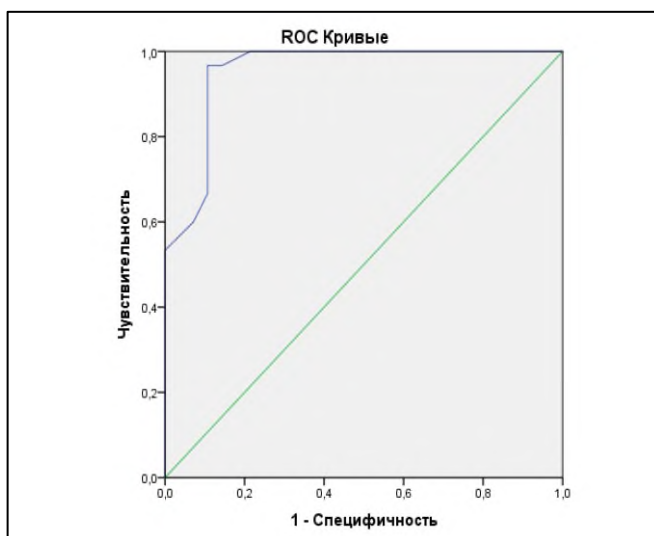


Рисунок 10. ROC-анализ модели логистической регрессии

Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,954, 95% ДИ [0,901; 1,000], что свидетельствует о высокой классификационной способности модели в отношении сегрегации пациентов с пролактиномами, относящихся к «группе риска» наличия резистентности к терапии агонистами дофамина.

Фармакодинамические особенности пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом и применение «каберголин-гидроксихлорохинового» теста в ранней диагностике резистентности к терапии агонистами дофамина

С целью определения тактики и персонализации лечения пациентов с пролактиномами, включающего определение статуса чувствительности к агонистам дофамина проведен двухэтапный фармакодинамический каберголин-гидроксихлорохиновый тест.

В нулевой точке теста отмечены разнородные показатели каберголина, причем медиана концентрации каберголина у резистентных пациентов выше, чем у чувствительных к терапии. Причиной этого является длительный ($T_{1/2}$ 63-109 ч) период полувыведения каберголина, даже после отмены приема препарата следовые концентрации вещества сохраняются в сыворотке крови в течение 30 дней. Большинство пациентов, включенных в исследование, на протяжении длительного времени получают терапию каберголином, одномоментная отмена которой небезопасна. Однако, влияние этого ограничения полностью устраняется уже к 30-й минуте проведения 1 этапа пробы. Выявлены значимые отличия концентрации каберголина у чувствительных и резистентных к терапии пациентов, проявляющиеся с 30-й минуты исследования, данные представлены в таблице 7 и на рисунке 11. Впоследствии различия в концентрации каберголина сохраняются между двумя группами пациентов на протяжении времени, достигая максимальной, статистически значимой выраженности к 120-й и 240-й минутам. Таким образом, маркерными временными точками, которые могут быть

использованы для дифференцировки чувствительности пациентов к терапии являются 120-я и 240-я минуты.

Таблица 7. Концентрация каберголина в двух группах по исследуемым точкам на 1 этапе пробы

| Признак | Чувствительность | | Резистентность | | p, U-test |
|-----------|------------------|-----------------------|----------------|--------------------|-----------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Cab 0' | 28 | 9,8 [0,5; 15,2] | 30 | 13,0 [11,7; 27,0] | <0,001 |
| Cab 30' | 28 | 18,25 [11,35; 44,95] | 30 | 14,2 [12,1; 38,5] | 0,779 |
| Cab 60' | 28 | 25,2 [16,5; 60,1] | 30 | 22,8 [13,8; 46,0] | 0,493 |
| Cab 90' | 28 | 34,25 [21,95; 71,75] | 30 | 27,25 [14,7; 48,7] | 0,173 |
| Cab 120' | 28 | 44,65 [32,8; 73,7] | 30 | 29,0 [21,0; 48,9] | 0,006 |
| Cab 240' | 28 | 44,45 [32,45; 69,15] | 30 | 26,25 [17,1; 32,4] | 0,001 |
| Cab 720' | 28 | 38,55 [24,655; 49,25] | 30 | 23,05 [16,0; 50,1] | 0,011 |
| Cab 1440' | 28 | 34,50 [21,04; 44,15] | 30 | 12,7 [11,8; 18,9] | <0,001 |

Cab – каберголин

Поправка Бонферрони $p=0,05/8=0,006$

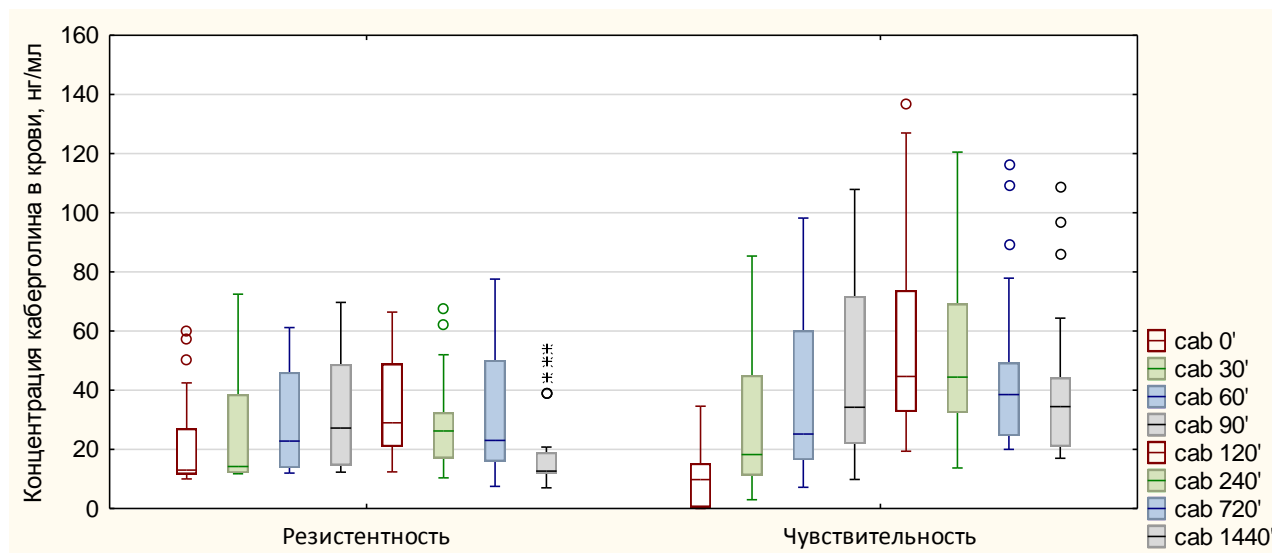


Рисунок 11. Концентрация каберголина в двух группах по исследуемым точкам на 1 этапе пробы

Диагностическими лабораторными маркерами, целесообразными к использованию для определения тактики и персонализации лечения пациентов, резистентных к терапии, являются процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови и продолжительность плато концентрации каберголина. В качестве порогового значения целесообразно использовать показатель процента прироста - 600%, показатель продолжительности плато концентрации каберголина - 690 минут. Выбор именно этих параметров обусловлен тем, что они в наибольшей степени отличаются у пациентов, чувствительных и резистентных к терапии, что также подтверждается статистически значимыми показателями р-критерия (таблица 7).

Таблица 8. Фармакодинамический профиль чувствительных и резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов.

| Признак | Чувствительность | | Резистентность | | p, U-test |
|--|------------------|-----------------------|----------------|--------------------|-----------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 28 | 794 [370; 8475] | 30 | 91 [59; 152] | <0,001 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 28 | 45,45 [35,5; 77,3] | 30 | 37,9 [22,7; 62,5] | 0,039 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 28 | 10,75 [3,65; 16] | 30 | 12,65 [11,8; 18,9] | 0,011 |
| Время пика каберголина, мин | 28 | 120 [90; 120] | 30 | 120 [90; 240] | 0,969 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 28 | 24,5 [19; 50] | 30 | 21 [16; 39] | 0,323 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 28 | 690 [600; 690] | 30 | 60 [30; 360] | <0,001 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 28 | 720 [720; 720] | 30 | 240 [120; 720] | 0,004 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 28 | -11,8 [-14,75; -10,7] | 30 | -52 [-60; -38] | <0,001 |

Поправка Бонферрони $p=0,05/8=0,006$

Продemonстрированы выраженные, статистически значимые различия уровня пролактина в сыворотке крови до 1 этапа пробы и после его завершения между группами чувствительных и резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов. Медиана уровня пролактина в крови до пробы среди чувствительных пациентов составила 1917,8 мЕд/л [506,5; 6616], в группе резистентных к терапии пациентов - 4108 [2208; 9208] ($p=0,048$). После завершения пробы с каберголином медиана уровня пролактина в крови у чувствительных пациентов – 609,5 [201; 3000], у резистентных пациентов – 3800 [2000; 7800] ($p=0,001$). Данные указаны в таблице 9.

Таблица 9. Сравнение групп чувствительных и резистентных пациентов по уровню пролактина в сыворотке крови в ходе 1 этапа пробы с каберголином

| Признак | Чувствительность | | Резистентность | | p, U-test |
|------------------------------|------------------|----------------------|----------------|-------------------|-----------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Пролактин до пробы, мМЕ/л | 28 | 1917,5 [506,5; 6616] | 30 | 4108 [2208; 9208] | 0,048 |
| Пролактин после пробы, мМЕ/л | 28 | 609,5 [201; 3000] | 30 | 3800 [2000; 7800] | 0,001 |

Поправка Бонферрони $p=0,05/2=0,025$

Таким образом, выявлены характерные фармакодинамические особенности, позволяющие выделить диагностические лабораторные маркеры для дифференцировки статуса чувствительности пациентов с пролактиномами к терапии агонистами дофамина - процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови и продолжительность плато концентрации каберголина. Их определение позволит максимально рано выявить наличие резистентности к терапии в случае пролактин-секретирующих аденом гипофиза и своевременно

определить оптимальный персонализированный алгоритм ведения пациента.

Установление у пациента резистентности к терапии агонистами дофамина требует решения следующего вопроса – какими дополнительными возможностями консервативной терапии мы располагаем? Для оценки терапевтического потенциала комбинированной медикаментозной терапии каберголином и гидроксихлорохином выполнен углубленный анализ фармакодинамических характеристик пациентов в ходе проведенной двухэтапной пробы (таблица 10, рисунок 12).

Таблица 10. Сравнение фармакодинамических показателей на первом и втором этапе пробы в группе пациентов, резистентных к терапии

| Признак | Первый этап | | Второй этап | | p, Wilcoxon |
|--|-------------|---------------------|-------------|-------------------|-------------|
| | | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 20 | 91 [39,5; 152] | 20 | 246,5 [55,5; 365] | 0,002 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 20 | 36,5 [24,7; 65,1] | 20 | 65,9 [52,7; 74,1] | <0,001 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 20 | 12,65 [11,8; 29,95] | 20 | 40,35 [25; 45,95] | 0,004 |
| Время пика каберголина, мин | 20 | 120 [90; 120] | 20 | 90 [90; 120] | 0,109 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 20 | 21,0 [16,0; 42,1] | 20 | 47 [37; 60] | 0,001 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 20 | 60 [45; 360] | 20 | 690 [435; 690] | 0,001 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 20 | 240 [120; 720] | 20 | 720 [480; 720] | 0,005 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 20 | -50 [-58; -31,5] | 20 | -39 [-55; -36,75] | 0,478 |

Поправка Бонферрони $p=0,05/8=0,006$

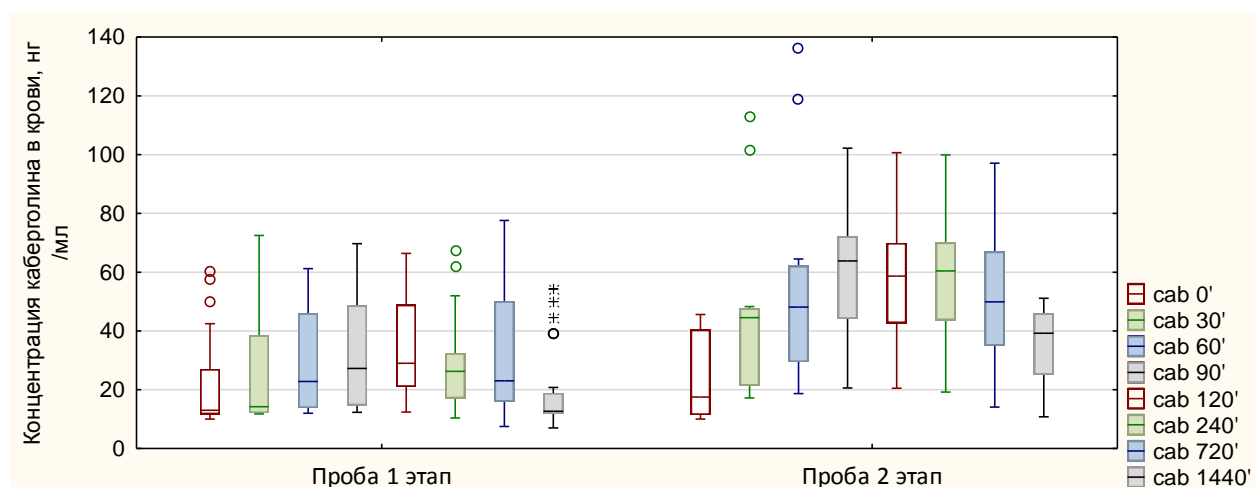


Рисунок 12. Сравнение концентрации каберголина в сыворотке крови пациентов, резистентных к терапии, на первом и втором этапе пробы

Продemonстрированы статистически значимые отличия ключевых

фармакодинамических показателей в ходе 2 этапа пробы: выраженное увеличение прироста концентрации каберголина в сыворотке крови пациентов с закономерным увеличением показателей его максимальной и средней концентрации, значительное увеличение продолжительности плато концентрации препарата в крови. Выполнен анализ статистической значимости разницы показателей каберголина между каждой из исследуемых точек пробы, по результатам которого подтверждена целесообразность использования точек, определенных на первом этапе пробы, как диагностически значимые. Наибольшая диагностическую ценность на 2 этапе пробы продемонстрированы в точках 240 и 720 минута.

На основании полученных данных выявлено 4 фармакодинамических паттерна, присущих пациентам с резистентностью к терапии. Показано, что обнаружение любого из них свидетельствует о наличии у пациента резистентности. Необходимо отметить, что каждый из паттернов диктует необходимость применения определенного алгоритма персонализированной терапии. Данные, характерные для четырех фармакодинамических типов представлены в соответствующих таблицах (таблицы 11 - 14).

Таблица 11. Фармакодинамические показатели для группы 1: «Отсутствие всасывания»

| Признак | Первый этап | | Второй этап | | P, Wilcoxon |
|--|-------------|-------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | N | Me [Q1; Q3] | | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 5 | 17 [13; 20] | 5 | 50,6 [23; 50,6] | 0,043 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 5 | 62,5 [14,9; 65,8] | 5 | 67,8 [21,1; 67,8] | 0,138 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 5 | 44,3 [11,5; 49,9] | 5 | 40,7 [11,3; 41,7] | 0,043 |
| Время пика каберголина, мин | 5 | 30 [30; 90] | 5 | 240 [90; 240] | 0,109 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 5 | 64 [13,5; 64] | 5 | 55 [17; 55] | 0,225 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 5 | 30 [30; 60] | 5 | 180 [60; 180] | 0,109 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 5 | 30 [30; 240] | 5 | 240 [240; 240] | 0,109 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 5 | -25 [-25; -19] | 5 | -38,5 [-47; -38,5] | 0,043 |

Лабораторные маркеры паттерна 1:

- отсутствие динамики фармакодинамических показателей в ходе второго этапа пробы - прирост концентрации каберголина и продолжительности плато каберголина менее, чем в 3 раза по сравнению с первым этапом пробы.

Таблица 12. Фармакодинамические показатели для группы 2: «Пик и спад»

| Признак | Первый этап | | Второй этап | | P, Wilcoxon |
|--|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 7 | 152 [98; 152] | 7 | 185 [60; 250] | 0,398 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 7 | 53,6 [26,7; 64,4] | 7 | 72,4 [42,8; 79,9] | 0,018 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 7 | 12,7 [10,8; 19,3] | 7 | 48,5 [27; 48,5] | 0,018 |
| Время пика каберголина, мин | 7 | 120 [120; 120] | 7 | 90 [90; 90] | 0,018 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 7 | 29 [16; 39] | 7 | 60 [30; 60] | 0,018 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 7 | 60 [30; 60] | 7 | 690 [690; 690] | 0,018 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 7 | 120 [120; 240] | 7 | 720 [720; 720] | 0,018 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 7 | -81 [-101; -54] | 7 | -33 [-40; -33] | 0,018 |

Лабораторные маркеры паттерна 2:

- недостаточная продолжительность плато концентрации каберголина в крови по данным первого этапа пробы;
- положительная динамика продолжительности плато каберголина в ходе второго этапа пробы – увеличение более, чем в 3 раза по сравнению с первым этапом пробы.

Таблица 13. Фармакодинамические показатели для группы 3: «Низкий пик»

| Признак | Первый этап | | Второй этап | | P, Wilcoxon |
|--|-------------|-------------------|-------------|---------------------|-------------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 4 | 140,5 [91; 190] | 4 | 365 [359; 371] | 0,068 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 4 | 25,5 [21,6; 29,4] | 4 | 53,35 [52,7; 58,85] | 0,068 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 4 | 12,3 [12,0; 12,6] | 4 | 31,25 [23,5; 39,25] | 0,068 |
| Время пика каберголина, мин | 4 | 105 [90; 120] | 4 | 105 [90; 120] | 1,000 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 4 | 19 [17; 21] | 4 | 38 [37; 39] | 0,068 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 4 | 690 [690; 690] | 4 | 690 [690; 690] | 1,000 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 4 | 720 [720; 720] | 4 | 720 [720; 720] | 1,000 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 4 | -48 [-58; -38] | 4 | -50,5 [-62; -39] | 0,465 |

Лабораторные маркеры паттерна 3:

- положительная динамика фармакодинамических показателей в ходе второго этапа пробы – увеличение процента прироста концентрации каберголина в сыворотке крови и продолжительности плато каберголина более, чем в 3 раза по сравнению с первым этапом пробы;
- увеличение Стах каберголина в 2 раза и более по сравнению с первым этапом пробы.

Таблица 14. Фармакодинамические показатели для группы 4: «Поздний пик»

| Признак | Первый этап | | Второй этап | | p, Wilcoxon |
|--|-------------|--------------------|-------------|----------------------|----------------|
| | N | Me [Q1; Q3] | N | Me [Q1; Q3] | |
| Процент прироста концентрации каберголина, % | 4 | 82 [73; 133] | 4 | 367,5 [347,5; 382,5] | 0,068 |
| Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл | 4 | 52,55 [25,1; 77,6] | 4 | 91,35 [58,45; 127,5] | 0,068 |
| Минимальная концентрация каберголина, пг/мл | 4 | 25,55 [11,8; 39,1] | 4 | 39,1 [30,4; 42,7] | 0,273 |
| Время пика каберголина, мин | 4 | 720 [720; 720] | 4 | 75 [60; 105] | 0,068 |
| Средняя концентрация каберголина, пг/мл | 4 | 29,6 [13,5; 47,1] | 4 | 62,5 [38; 88] | 0,068 |
| Продолжительность плато концентрации каберголина, мин | 4 | 360 [360; 360] | 4 | 690 [690; 690] | 0,068 |
| Время начала снижения концентрации каберголина, мин | 4 | 720 [720; 720] | 4 | 720 [720; 720] | 1,000 |
| Процент убыли концентрации каберголина, % | 4 | -48,5 [-50; -46] | 4 | -60,5 [-65,5; -49] | 0,144 |

Лабораторные маркеры паттерна 4:

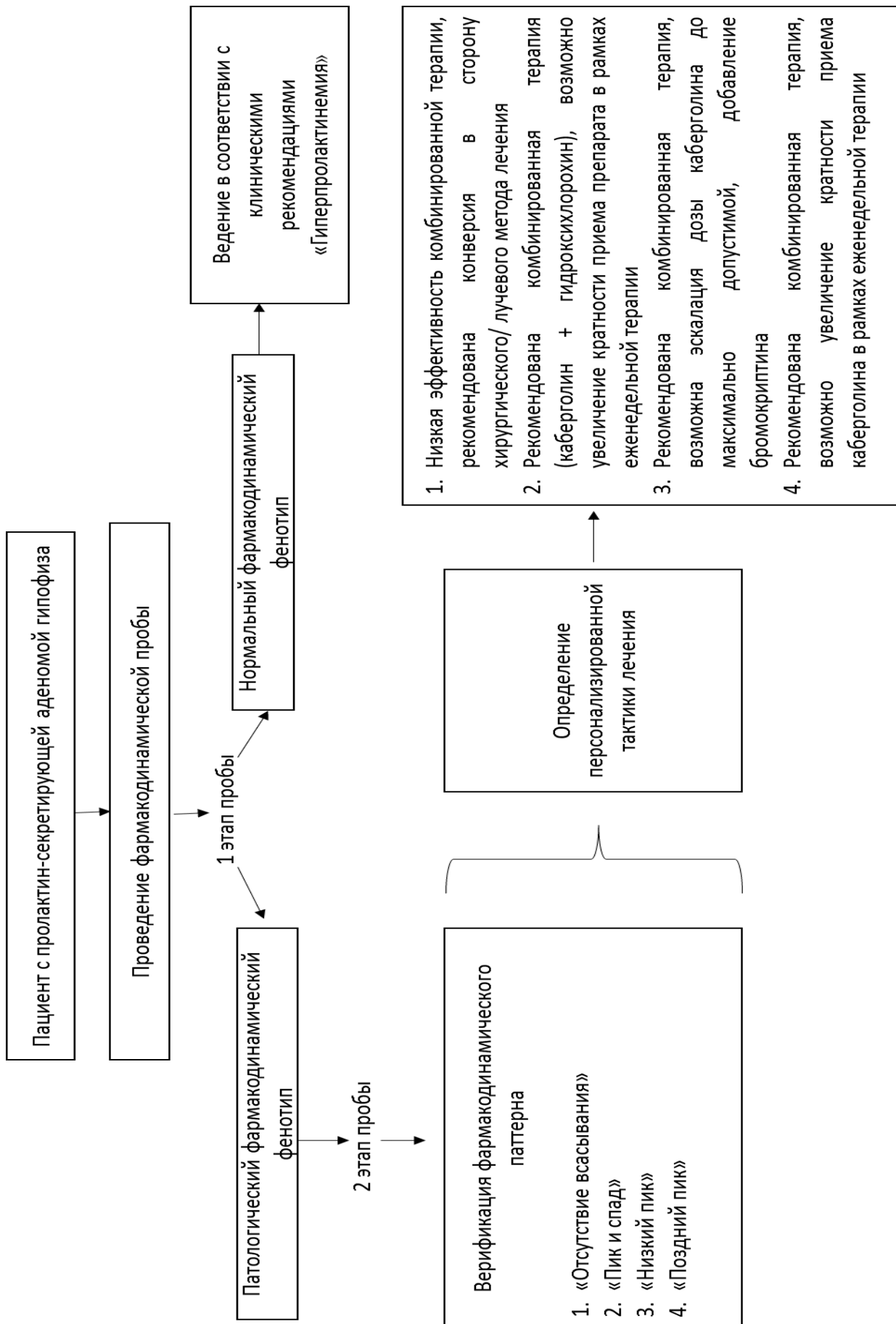
- положительная динамика фармакодинамических показателей в ходе второго этапа пробы – увеличение процента прироста концентрации каберголина в сыворотке крови и продолжительности плато каберголина более, чем в 3 раза по сравнению с первым этапом пробы;
- более раннее (в 3 раза и более) наступление пика концентрации каберголина в крови по сравнению с первым этапом пробы.

Обсуждение фармакодинамических особенностей пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных и чувствительных к медикаментозной терапии

Метод выбора лечения гиперпролактинемии – медикаментозный, препарат выбора первой линии – каберголин. В настоящее время, в соответствии с зарубежными и отечественными рекомендациями по ведению пациентов с

гиперпролактинемией, прежде, чем менять тактику лечения, необходимо продолжать лечение на протяжении не менее 6 месяцев. При этом известно, что в случае резистентности к терапии пролактин-секретирующие аденомы демонстрируют признаки «агрессивности»: высокие темпы увеличения размеров аденомы, инвазивный характер роста, склонность к параселлярному и супраселлярному росту. Пролонгирование периода неэффективного медикаментозного лечения приводит как к прогрессированию имеющихся нарушений, обусловленных гиперпролактинемией, так и к увеличению риск возникновения описанных топографо-анатомических изменений аденомы гипофиза. Таким образом, важно на раннем диагностическом этапе выявить резистентность к терапии агонистами дофамина с целью незамедлительного определения оптимальной персонализированной тактики лечения. По данным проведенной работы показано, что диагностически значимыми для определения резистентности к терапии точками пробы с каберголином являются значения концентрации каберголина в сыворотке крови на 120-ой и 240-ой минутах исследования. В ходе исследования выявлено 4 варианта патологических паттернов фармакодинамической кривой каберголина, каждый из которых обладает прогностическим потенциалом в отношении изменения тактики лечения.

Алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующей аденомой гипофиза



ВЫВОДЫ

1. Прولاктиномы, резистентные к лечению агонистами дофамина, по сравнению с чувствительными к лечению аденомами, характеризуются большей частотой супра- и параселлярного распространения (83% vs 57% и 97% vs 14%, соответственно), инвазивного роста (43% vs 7%), в меньшей степени отмечается наличие кистозного компонента опухоли (7% vs 54%).

2. Возраст манифестации заболевания при резистентности к терапии агонистами дофамина ниже, чем в случаях чувствительности пролактином к лечению (медиана возраста 26 лет vs 35 лет). Пациенты с резистентными пролактиномами чаще имеют зрительные нарушения (70% vs 29%), отличаются неудовлетворительной динамикой купирования гиперпролактинемии (медиана гиперпролактинемии на фоне медикаментозной терапии 6350 мЕд/л vs 424,5 мЕд/л), при этом уровень пролактина в сыворотке крови положительно коррелирует с объемом аденомы.

3. В случае резистентности к терапии агонистами дофамина доказано наличие фармакодинамических дефектов, обуславливающих невозможность достижения целей лечения пролактиномы, выявлено 4 патологических фармакодинамических паттерна, определяющих дифференцированный подход к тактике ведения.

4. Резистентные к терапии агонистами дофамина пролактиномы обладают характерными генетическими особенностями: активация экспрессии генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3* и ингибирование *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGC*, *TUBA3C*, *BRS3*. При этом выявлена противоположная экспрессия генов в образцах чувствительных и резистентных пролактин-секретирующих аденом гипофиза.

5. По данным секвенирования единичных клеток обнаружены характерные для резистентных пролактином генные сигнатуры, свидетельствующие о детерминированности агрессивного, резистентного фенотипа клеточной гетерогенности опухоли.

6. Разработан алгоритм персонализированного ведения пациентов, позволяющий оптимизировать терапевтическую тактику, при необходимости – своевременно выполнить конверсию в сторону оперативного лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с пролактиномами из группы риска наличия резистентности к терапии агонистами дофамина, показано проведение фармакодинамической пробы.
2. Пациентам с подтвержденной резистентностью к терапии агонистами дофамина по данным фармакодинамической пробы, показано определение паттерна резистентности для оценки оптимальной персонализированной тактики ведения.
3. Результаты фармакодинамической пробы в совокупности с предиктивными в отношении резистентности характеристиками: молодой возраст манифестации, признаки агрессивности роста, преобладание в структуре проявлений заболевания нарушений репродуктивной системы и ухудшения зрения могут быть критериями определения тактики ведения пациента.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Современные представления о генетических и иммуногистохимических особенностях пролактин-секретирующих аденом гипофиза / **Шутова А.С.**, Дзеранова Л.К., Воротникова С.Ю., Кутин М.А., Пигарова Е.А. // Проблемы эндокринологии – 2023 - № 3 - С. 44-50.
2. Преодоление резистентности пролактином к медикаментозной терапии: от перспектив к реальной клинической практике / **Шутова А.С.**, Пигарова Е. А., Л. И. Лепешкина, Л.И. Астафьева, В. А. Иоутси, М. Ю. Дроков, С. Ю. Воротникова, Л. К. Дзеранова // Проблемы эндокринологии – 2023 - № 6 – С 32-39.
3. Лекарственно-индуцированная гиперпролактинемия: механизм развития, особенности диагностики и лечения / Дзеранова Л.К., Воротникова С.Ю., **Шутова А.С.**, Пигарова Е.А., Евлоева М.И. // Ожирение и метаболизм – 2023 - № 3 – С.251-258.
4. Акромегалия при дифференциальной диагностике тугоухости / Дзеранова Л.К., Лепешкина Л.И., **Шутова А.С.**, Перепелова М.А., Пигарова Е.А., Азизян В.Н., Акопян П.В., Пржиялковская Е.Г., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г. // Проблемы эндокринологии – 2023 - № 2 - С. 31-37
5. Эффективность терапии октреотидом пролонгированного действия у пациентки с акромегалией в качестве первичного лечения / Дзеранова Л.К., Евлоева М.И., Перепелова М.А., Пигарова Е.А., **Шутова А.С.**, Доровских А.В., Азизян В.Н., Пржиялковская Е.Г. // Ожирение и метаболизм – 2023 - № 1 - С. 66-72.
6. Опыт лечения антагонистом рецепторов гормона роста при наследственной форме акромегалии: клинические случаи / Дзеранова Л.К., Доровских А.В., Пигарова Е.А., Пржиялковская Е.Г., **Шутова А.С.**, Евлоева М.И., Григорьев А.Ю., Азизян В.Н., Иващенко О.В. // Ожирение и метаболизм – 2022 - № 2. С. 189-197.
7. Коррекция эндокринных осложнений онкоиммунотерапии / Пигарова Е.А., **Шутова А.С.**, Дзеранова Л.К. // Ожирение и метаболизм – 2022 - № 4 - С. 418-430.
8. Сочетание папиллярной микрокарциномы щитовидной железы и диффузного токсического зоба у пациента с акромегалией / Дзеранова Л.К., Ткачук А.В., Пигарова Е.А., Перепелова М.А., Ким И.В., Доровских А.В., **Шутова А.С.** // Клиническая и экспериментальная тиреоидология – 2022 - № 1 - С. 29-33.
9. Стресс-индуцированные эндокринопатии / **Шутова А.С.**, Дзеранова Л.К., Воротникова С.Ю., Пигарова Е.А. // Вестник кыргызско-российского славянского университета – 2021 - № 1 - С. 98-106.
10. Опыт применения аналогов соматостатина пролонгированного действия у пациентов с ТТГ-секретирующими аденомами гипофиза / Дзеранова Л.К., **Шутова А.С.**, Пигарова Е.А., Старостина П.А., Хуцишвили Н.А., Воротникова С.Ю., Григорьев А.Ю., Иващенко О.В., Азизян В.Н., Лапшина А.М. // Ожирение и метаболизм – 2021 - № 4 - С. 438-44

Список сокращений

Bulk-RNA-seq – Bulk-RNA-sequencing

CAGE-sequencing – cap analysis of genes expression sequencing

CAR-T – chimeric antigen receptors T cell

FDR – false discovery rate

FIPA – синдром семейных изолированных аденом гипофиза

KNDу нейрон - кикспепин-, нейрокинин В, динорфин нейрон

Ki-67 – маркер пролиферативной активности

Pit-1 – гипофиз-специфичный транскрипционный фактор 1

MDS – multidimensional scaling plot

N – количество

scRNAseq – single-cell sequencing

UMAP – uniform manifold approximation and projection

ВЭЖХМС/МС – высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия

Д2 рецептор – дофаминовый рецептор 2 типа

КМУ – Критерий Манна-Уитни

MPT – магнитно-резонансная томография

ОНГ – анализ обогащения набора генов

ПРЛ – пролактин

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ТКФ – точный критерий Фишера