

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ЭНДОКРИНОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Федорова Наталья Сергеевна**

**Клинико-морфологическая характеристика  
пролактинсекретирующих опухолей гипофиза,  
резистентных к лечению агонистами дофамина**

14.01.02 – эндокринология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук

Л.К. Дзеранова

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор

А.Ю. Абросимов

Москва 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение .....</b>	<b>3</b>
<b>Глава 1. Обзор литературы .....</b>	<b>9</b>
1.1.Эффективность консервативного лечения пролактинсекретирующих опухолей гипофиза агонистами дофамина .....	9
1.1.1. Влияние агонистов дофамина на уровень пролактина сыворотки крови и размер пролактиномы .....	9
1.1.2. Применение каберголина при гигантских пролактиномах .....	12
1.1.3. Влияние каберголина на метаболические параметры у пациентов с пролактиномами .....	13
1.2.Резистентность к лечению агонистами дофамина.....	14
1.2.1. Критерии резистентности к агонистам дофамина .....	14
1.2.2. Причины развития резистентности к агонистам дофамина .....	18
1.3.Морфологическая характеристика пролактином.....	25
<b>Глава 2. Материалы и методы.....</b>	<b>32</b>
<b>Глава 3. Результаты и их обсуждение .....</b>	<b>45</b>
3.1 Клинико-лабораторная характеристика пациентов.....	45
3.1.1. Клиническая характеристика пациентов.....	45
3.1.2. Лабораторная характеристика пациентов .....	55
3.1.2. Характеристика пролактином по данным МРТ .....	61
3.1.4. Морфологическая характеристика пролактином, резистентных к агонистам дофамина .....	67
3.2.Оценка эффективности лечения пролактином.....	82
3.2.1. Агонисты дофамина .....	82
3.2.2. Фармакокинетика каберголина .....	88
3.2.3. Оперативное лечение .....	95
3.2.4. Лучевая терапия.....	98
3.2.5. Тамоксифен в лечении пролактином, резистентных к агонистам дофамина.....	100
<b>Заключение .....</b>	<b>107</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>113</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>	<b>114</b>
<b>Список сокращений и условных обозначений .....</b>	<b>115</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>116</b>

## Введение

### Актуальность научной проблемы

Пролактиномы являются наиболее распространенными среди гормонально активных опухолей гипоталамо-гипофизарной области, составляя около 40% от всех новообразований гипофиза [37, 70]. В зависимости от размера пролактиномы классифицируют на микроаденомы (не более 1,0 см в диаметре) и макроаденомы (диаметром более 1,0 см). При микроаденомах, которые встречаются в 80% случаев [60], в основном пациенты обращаются к врачу с жалобами на нарушение менструального цикла по типу олигоменореи/аменореи, лакторею, снижение либидо и потенции. В первую очередь заболеванию подвержены молодые женщины, у которых часто причиной обращения к врачу является бесплодие. Пациенты, имеющие макроаденомы с экстраселлярным распространением, обращаются за медицинской помощью в связи с жалобами на головную боль, зрительные нарушения, признаки пареза черепно-мозговых нервов, гипопитуитаризм, помимо проявлений гиперпролактинемии [43].

Основным методом лечения пролактином в настоящее время является медикаментозная терапия агонистами дофаминовых рецепторов, которая в большинстве случаев позволяет добиться нормализации уровня пролактина в сыворотке крови, уменьшения размеров аденомы. Тем не менее, некоторые пациенты неудовлетворительно реагируют даже на высокие дозы агонистов дофамина, то есть они являются резистентными к действию данной группы препаратов. Доля этих пациентов согласно данным литературы составляет 10-15% [24, 70, 106]. Следует отметить, что на сегодняшний день нет единого подхода к толкованию понятия «резистентность», разные авторы используют разные критерии резистентности к агонистам дофамина. Кроме того, остается открытым вопрос о причинах резистентности к лечению агонистами дофамина. По данным зарубежных исследований чувствительность к агонистам дофамина зависит от наличия на поверхности клеток аденомы дофаминовых рецепторов 2 типа [116].

Вероятно, недостаточное количество рецепторов, возможно даже их полное отсутствие, на поверхности лактотрофов приводит к неэффективности данной группы препаратов у части пациентов.

Среди возможных методов дополнительной терапии могут обсуждаться оперативное вмешательство, лучевая терапия. Казалось очевидным преимущество оперативного лечения в случае резистентности к медикаментозной терапии, однако и его эффективность составляет только 40-50%, что связано с высокой частотой агрессивного роста резистентных опухолей, с распространением в труднодоступные отделы мозга, а также подразумевает потенциальный риск развития дефицита тропных гормонов гипофиза [19, 93, 110]. Лучевая терапия, как и хирургическое лечение, не являются методами выбора в лечении пролактином, поскольку среди гормонопродуцирующих опухолей гипофиза пролактиномы являются наименее радиочувствительными [120]. Вместе с тем, результат лучевой терапии отсрочен во времени и сопровождается развитием гипопитуитаризма.

В литературе имеются сведения об экспрессии соматостатиновых, эстрогеновых рецепторов в тканях пролактином без анализа связи с резистентностью к лечению агонистами дофамина [75, 140]. Имеются единичные работы по применению препаратов, не относящихся к группе агонистов дофаминовых рецепторов, таких как аналоги соматостатина [77], селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов [58], темозоломид [161]. Однако эти альтернативные медикаментозные подходы к лечению пациентов с пролактиномами, резистентными к агонистам дофамина, требуют дальнейших исследований.

Таким образом, резистентность к лечению агонистами дофамина у пациентов с пролактиномами в клинической практике встречается нередко, особенно среди женщин репродуктивного возраста, отсутствуют четкие подходы к решению данной проблемы, что определяет ее актуальность и требует дальнейшей ее разработки, а комплексное изучение иммуногистохимических

особенностей пролактином, резистентных к терапии агонистами дофамина, представляет научный и практический интерес.

### **Цель научного исследования**

Изучить клинические и морфофункциональные особенности пролактином, резистентных к лечению агонистами дофамина.

### **Задачи научного исследования**

1. Изучить клинические особенности пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина.
2. Определить лабораторные особенности пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина.
3. Изучить особенности направления роста и структуры пролактином, резистентных к лечению агонистами дофамина по данным МРТ и выявить их взаимосвязь с уровнем ПРЛ сыворотки крови.
4. Выявить особенности фармакокинетики каберголина у пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина пациентов.
5. Исследовать морфологию и дать иммуногистохимическую характеристику удаленных пролактином, резистентных к лечению агонистами дофамина:
  - а. оценить экспрессию ПРЛ, СТГ, ЛГ, ФСГ, ТТГ, АКТГ клетками пролактином;
  - б. оценить иммуноэкспрессию  $D_2$ -рецепторов, соматостатиновые рецепторы 2 и 5 типа, ЭР $\alpha$  в опухолевых клетках;
  - в. определить индекс метки пролиферации клеток (Ki-67);
  - г. определить маркер ангиогенеза (CD34).
6. Изучить влияние тамоксифена на клинические характеристики, уровень пролактина крови у пациентов с пролактиномами, резистентными к агонистам дофамина.

### **Научная новизна исследования**

Впервые на российской популяции выполнена комплексная оценка клинических, гистологических и иммуногистохимических особенностей удаленных пролактинсекретирующих аденом гипофиза, резистентных к лечению агонистами дофамина, изучена связь между клинико-лабораторными характеристиками пациентов и иммуногистохимическими показателями опухоли. Проведено пилотное исследование эффективности и безопасности применения тамоксифена в комбинации с каберголином у пациенток с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина. Разработан протокол проведения фармакокинетической пробы с определением концентрации каберголина в плазме крови пациентов с пролактинсекретирующими аденомами гипофиза. Впервые используется метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения каберголина в плазме крови.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты проведенных исследований дают основу для персонифицированного подхода к ведению и лечению пациентов с резистентными пролактинсекретирующими аденомами гипофиза. Полученные данные позволят расширить понимание механизмов резистентности к агонистам дофамина у пациентов с пролактиномами.

### **Личное участие автора в получении научных результатов**

Автор лично систематизировал данные историй болезни, самостоятельно выполнил иммуногистохимическое исследование операционного материала, провел статистическую обработку полученных результатов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. К отличительным особенностям пролактином у пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина, относятся низкая иммуноэкспрессия ДР<sub>2</sub>, ЭР $\alpha$ , ССР2, ССР5, низкая пролиферативная активность.
2. Фармакокинетические свойства каберголина отличаются у пациентов с пролактиномами в зависимости от ответа на лечение.
3. Тамоксифен в комбинации с каберголином приводит к значимому снижению уровня ПРЛ в сыворотке крови.

### **Апробация работы**

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 24 января 2018г. на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии-диабетологии Института высшего и дополнительного профессионального образования ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 3 работы – в журналах, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций. Результаты исследования внедрены в клиническую практику отделений нейроэндокринологии и остеопатий, хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Материалы работы представлены на VI Всероссийском конгрессе эндокринологов с международным участием «Современные технологии в эндокринологии» (г. Москва, Россия, 2012г.), на первой всероссийской научной конференции молодых ученых-медиков «Инновационные технологии в медицине XXI века» (г. Москва, Россия, 2012г.), на 15-м конгрессе Европейской ассоциации эндокринологов (г. Копенгаген, Дания, 2013г.), на 17-м конгрессе Европейской нейроэндокринной ассоциации (г. Милан, Италия, 2016г.), на симпозиуме «Hyperprolactinemia and other endocrine causes of infertility» Европейской

нейроэндокринной ассоциация (г. Санкт-Петербург, Россия, 2017г.). Получен патент № 2637430 «Способ выбора тактики ведения пациентов с резистентными к консервативному лечению пролактинсекретирующими аденомами гипофиза на основе анализа индивидуальных особенностей фармакодинамики каберголина».

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на русском языке в объеме 131 страницы машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований и обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций.

Работа иллюстрирована 22 таблицами и 22 рисунками. Список использованной литературы включает 170 источников: 9 отечественных и 161 зарубежных.

## Глава 1. Обзор литературы

### **1.1. Эффективность консервативного лечения пролактинсекретирующих опухолей гипофиза агонистами дофамина**

#### **1.1.1. Влияние агонистов дофамина на уровень пролактина сыворотки крови и размер пролактиномы**

Медикаментозная терапия агонистами дофамина применяется в качестве первичного метода лечения больных с пролактинсекретирующими опухолями гипофиза. Агонисты дофамина приводят к нормализации ПРЛ в крови, уменьшению размеров аденомы гипофиза (Таблица 1) и изменению клинических симптомов заболевания.

Ранние исследования [68, 158] показали эффективность лечения агонистами дофамина пациентов с гиперпролактинемией неопухолевого генеза и с микропролактиномами. Многие авторы продемонстрировали эффективность каберголина [61]. Так в плацебо–контролируемом исследовании лечение каберголином (0,125-1,0 мг два раза в неделю) в течение 12-24 месяцев у пациентов с пролактинсекретирующими микроаденомами привело к нормализации уровня ПРЛ у 95% больных. У 82% женщин с аменореей на фоне терапии каберголином восстановился менструальный цикл [158]. Те же авторы в мультицентровом исследовании [160] сравнивали эффективность каберголина (0,5-1 мг дважды в неделю) и бромокриптина (2,5-5 мг дважды в сутки) у 459 женщин с аменореей, обусловленной гиперпролактинемией различного генеза. Нормопролактинемия достигнута у 186 из 223 (83%) женщин, получавших каберголин, и у 138 из 236 (59%) – на фоне приема бромокриптина. Клиническая эффективность (овуляторные циклы или наступление беременности) отмечалась у 72% женщин, получавших каберголин, и у 52% женщин, принимавших бромокриптин.

Несколько позднее выполнен анализ результатов применения агонистов дофамина, в частности каберголина, у пациентов с макроаденомами, сравнивали его эффективность при аденомах разного размера, также появились исследования

первичного назначения каберголина при выявлении пролактином. В ретроспективном исследовании с участием 455 пациентов применение каберголина приводило к нормализации уровня ПРЛ у 92% пациентов с идиопатической гиперпролактинемией или микропролактиномами, а также у 77% из 181 пациента с макропролактиномами [154].

В сравнительном ретроспективном исследовании каберголина и бромокriptина Di Sarno A. и соавт. 120 пациентов получали каберголин (56 пациентов с макроаденомами, 60 – с микроаденомами, 4 – с гиперпролактинемией неопухолевого генеза), 87 пациентов получали бромокriptин (26 пациентов с макроаденомами, 44 – с микроаденомами, 15 – с гиперпролактинемией неопухолевого генеза). После 24 месяцев нормализация ПРЛ и уменьшение размеров опухоли достигнуты в группе каберголина и бромокriptина соответственно у 82,1% и 46,4% пациентов с макроаденомами ( $p < 0,001$ ) и в 90% по сравнению с 56,8% у пациентов с микроаденомами ( $p < 0,001$ ). Для достижения обеих целей лечения средние дозы каберголина и бромокriptина составили соответственно 1 мг/нед и 7,5 мг/сут у пациентов с макроаденомами, 1 мг/нед и 5 мг/сут у пациентов с микроаденомами [54].

В проспективном исследовании 26 пациентов с макропролактиномами, ранее не получавших лечение, после назначения каберголина 0,25-2 мг еженедельно в течение 6 месяцев удалось добиться нормализации ПРЛ у 81% пациентов, а у 92% наблюдалось значительное уменьшение размеров опухоли [38].

Результаты исследований свидетельствуют о более высокой эффективности каберголина по сравнению с бромокriptином. До конца не ясно, почему каберголин более эффективен, хотя данный факт может быть объяснен тем, что каберголин имеет большее сродство к рецепторам дофамина, а также замедленной элиминацией его из кровотока. Ввиду того, что нежелательные эффекты при использовании каберголина встречаются реже, приверженность пациентов к данному препарату выше [154].

**Таблица 1 – Результаты лечения агонистами дофамина**

Автор	Год	Число пациентов	Нормализация уровня ПРЛ	Уменьшение размеров аденомы
Webster J. <sup>158</sup>	1992	41	95%	
Verhelst J. <sup>154</sup>	1999	274/181 Микроаденомы/макроаденомы	92%/77%	
Colao A. <sup>38</sup>	2000	26	81%	92%
Di Sarno A. <sup>54</sup>	2001	120	87%	
Berinder K. <sup>24</sup>	2005	271	71%	80%
Ono M. <sup>112</sup>	2008	150	88%	

Накопленный опыт длительного применения агонистов дофамина показан в шведском исследовании Berinder K. и соавт. Из 271 женщины с гиперпролактинемией, наблюдавшихся в течение 29 лет, 240 принимали агонисты дофамина (включая бромокриптин, каберголин и хинаголид). Нормализация уровней ПРЛ наблюдалась в 71% случаев, и в 80% произошла полная или частичная регрессия опухоли [24].

В 2010г. проведен мета-анализ, включивший 19 исследований, в общей сложности 743 пациента, цель которого состояла в том, чтобы оценить эффект терапии агонистами дофамина у больных с идиопатической гиперпролактинемией и пролактиномами после отмены лечения. Анализ данных показал лучшую эффективность лечения у пациентов с идиопатической гиперпролактинемией (32% (95% ДИ [5; 80%])), по сравнению с микроаденомами (21% (95% ДИ [10; 37%])) и также макроаденомами (16% (95% ДИ [6; 36%])). Длительность приема агонистов дофамина была связана с успехом лечения ( $p = 0,015$ ), вероятность сохранения нормопролактинемии после отмены лечения была наибольшей, когда каберголин использовался в течение по крайней мере 2 лет [47].

### 1.1.2. Применение каберголина при гигантских пролактиномах

Успех в лечении микро- и макропролактином позволил начать применение агонистов дофамина при гигантских пролактиномах. Однако цели медикаментозного лечения гигантских аденом могут отличаться от лечения пролактином меньшего размера. Так при лечении гигантских аденом гипофиза на первое место выходит задача добиться уменьшения размеров опухоли, регресса неврологической симптоматики, в частности улучшения зрения. Изначально агонисты дофамина применялись в качестве дополнительного метода лечения в составе комбинированной терапии после частичного хирургического лечения и/или первичной радиотерапии. В дальнейшем в исследованиях было показано, что каберголин в качестве первичного метода лечения гигантских пролактином приводит к уменьшению размеров опухоли, улучшению или восстановлению зрительных функций, значительному снижению или нормализации пролактина у большинства больных.

В исследовании Астафьевой Л.И. 29 пациентов с гигантскими пролактиномами ( $\geq 60$  мм) получали каберголин в качестве первичного метода лечения в течение 3-24 месяцев. Доза каберголина составила в среднем 1,5 мг/нед (0,5-3,5 мг/нед). На этом фоне статистически значимое снижение уровня ПРЛ достигнуто у 95% больных, а нормализация – только у 69% пациентов. На фоне проводимой медикаментозной терапии улучшение зрения отмечено у 46% больных, полное восстановление зрения в 35% случаев. Уменьшение размеров аденомы на 50% и более произошло у 76% больных [1].

Схожие результаты получены в ретроспективном исследовании Espinosa E., однако авторы используют разные классификации аденом гипофиза по размеру, что затрудняет их сравнение. Espinosa E. и соавт. показали, что лечение каберголином одинаково эффективно в отношении достижения целей у пациентов с макропролактиномами и с гигантскими пролактиномами ( $\geq 40$  мм), хотя средняя доза каберголина была несколько выше в группе гигантских пролактином (2 мг/нед против 1,5 мг/нед). Лечение каберголином гигантских пролактином

привело к нормализации уровня ПРЛ у 68% пациентов и уменьшению объема опухоли на 50% и более у 87% больных. Сочетание нормализации ПРЛ и уменьшения объема аденомы на 50% и более показано у 55% гигантских пролактином, что статистически не отличалось от данного показателя при макроаденомах – 66% ( $p = 0,19$ ). Улучшения полей зрения произошло у 68% больных в группе гигантских пролактином [57].

### 1.1.3. Влияние каберголина на метаболические параметры у пациентов с пролактиномами

Влияние приема агонистов дофамина на массу тела и другие метаболические параметры у пациентов с гиперпролактинемией является предметом активных исследований. Показано снижение массы тела у больных с пролактиномами после назначения терапии агонистами дофамина [20, 23, 55, 150]. В работе Pala N.A. продемонстрировано снижение массы тела и уменьшение абдоминального ожирения уже через 3 месяца от начала приема агонистов дофамина [114]. Многие исследования показали значительное улучшение показателей липидного профиля, глюкозы крови, инсулинорезистентности, причем изменения показателей липидного профиля наблюдаются раньше изменений в массе тела, что, вероятно, связано с прямым действием агонистов дофамина на метаболизм и не связано с изменением массы тела [17, 18, 80]. Ciresi A. и соавт. описали метаболические улучшения у пациентов с пролактиномами после 12 месяцев лечения каберголином, подчеркивая роль активного лечения высокими дозами каберголина [36].

Гипогонадотропный гипогонадизм как проявление гиперпролактинемии приводит к снижению минеральной плотности костной ткани (МПКТ) у пациентов с пролактиномами [167]. Takeno A. и соавт. описали клинический случай, показывающий увеличение МПКТ у пациента с пролактиномой без нивелирования клинических и лабораторных признаков гипогонадизма. Мужчина 43 лет имел макроаденому гипофиза с инвазией в кавернозные синусы. Уровень

ПРЛ удалось нормализовать только на фоне приема высоких доз каберголина (в течение 1 года постепенное увеличение дозы до 9 мг/нед). Уровни тестостерона, ЛГ, ФСГ оставались ниже референсных значений. Тем не менее, МПКТ увеличилась по данным денситометрии в поясничном отделе позвоночника и шейке бедренной кости, что сочеталось с повышением уровней щелочной фосфатазы и остеокальцина [139]. Это наблюдение показывает, что гипогонадизм не является доминирующей причиной снижения МПКТ у пациентов с пролактиномами. Исследования *in vitro* показали, что остеобласты экспрессируют рецептор ПРЛ [9] и что введение ПРЛ подавляет экспрессию мРНК остеокальцина, ключевого транскрипционного фактора дифференцировки остеобластов Runx2, активность щелочной фосфатазы [34, 130]. Эти данные позволяют предположить, что при гиперпролактинемии ухудшается образование костной ткани путем ингибирования пролиферации и дифференцировки остеобластов. Кроме того, ПРЛ способствует экспрессии мРНК факторов дифференцировки остеокластов, в том числе лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа В (RANKL), и блокирует ингибирующие факторы остеокластогенеза, такие как остеопротегерин [130]. Можно предположить, что лечение агонистами дофамина ускоряет образование костной ткани в первую очередь за счет уменьшения уровня ПРЛ.

## **1.2. Резистентность к лечению агонистами дофамина**

### **1.2.1. Критерии резистентности к агонистам дофамина**

Монотерапия агонистами дофамина в настоящее время является методом выбора лечения пролактином. Однако, несмотря на достигнутые успехи медикаментозной терапии пролактином, по данным разных авторов, от 3,4% до 20% пациентов имеют резистентность к лечению агонистами дофамина [4, 107, 157].

На сегодняшний день нет единого мнения относительно четкого определения резистентности к агонистам дофамина. Основными критериями

резистентности являются уровень ПРЛ в сыворотке крови, отсутствие динамики размеров аденомы гипофиза, персистирование клинических проявлений.

Нормализация ПРЛ как основного критерия эффективности терапии агонистами дофамина приводится практически во всех исследованиях, посвященных данной проблеме, в том числе у пациентов с гиперпролактинемией неопухолевого генеза. Резистентность к бромокриптину многими авторами определяется как неспособность нормализовать уровень ПРЛ, несмотря на применение более 15 мг бромокриптина в день в течение не менее 3 месяцев [26, 109, 116]. Резистентность к каберголину ранее характеризовалась отсутствием нормализации ПРЛ, несмотря на применение 1,5-2,0 мг каберголина в неделю [49, 54]. Однако последние данные свидетельствуют об эффективности высоких доз каберголина в лечении пролактином, устойчивых к бромокриптину. Например, в исследовании Colao A. и соавт. удалось добиться нормализации уровня ПРЛ у пациентов с резистентностью к бромокриптину в 85% случаев увеличением дозы каберголина до 3,5 мг в неделю [39]. В ретроспективном исследовании 122 пациентов с пролактиномами у 83% нормализация уровня ПРЛ была диагностирована в ответ на достаточно низкие дозы каберголина (0,5-1,5 мг в неделю). У 11% пациентов нормопролактинемия достигнута увеличением дозы каберголина максимально до 7 мг /нед, хотя большинство принимало 3,5 мг/нед, и только 6% пациентов были стойко устойчивы к каберголину [49]. Так, резистентность к каберголину многими авторами определяется как отсутствие нормализации ПРЛ крови в ответ на прием 3,0 мг каберголина в неделю.

Второй критерий резистентности – отсутствие уменьшения размера аденомы на 50% и более [106, 107]. Клинических исследований по прямому сравнению опухоль-редуцирующего эффекта различных агонистов дофамина не проводилось. Тем не менее, результаты различных исследований [49, 108] указывают на то, что бромокриптин у двух третей пациентов уменьшает размер опухоли гипофиза приблизительно на 50%, а каберголин на 80%.

В то время как исчезновение или снижение выраженности клинических симптомов заболевания является важной целью лечения, ее трудно использовать в

качестве критерия резистентности. Это связано с разнообразием клинических симптомов, проявление которых варьирует у пациентов, а также с разными целями лечения, выходящими на первый план (восстановление фертильности или контроль размеров опухоли).

Таким образом, резистентность к лечению агонистов дофамина можно определить, как отсутствие нормализации уровня ПРЛ крови и/или отсутствие уменьшения объема аденомы на 50% и более от исходного на фоне приема максимально переносимых доз каберголина (как наиболее эффективного из агонистов дофамина), но не менее 3 мг/нед.

Пациенты с пролактиномами показывают разную степень чувствительности к лечению. Можно выделить полную резистентность к агонистам дофамина, когда выполняются все условия определения резистентности, и частичную, которая имеет несколько клинических вариантов (Таблица 2).

Наиболее легкий вариант частичной резистентности – это достижение адекватного ответа на фоне приема высоких доз агонистов дофамина.

**Таблица 2 – Клинические варианты ответа на лечение агонистами дофамина**

	Доза агонистов дофамина	Уровень ПРЛ	Объем аденомы
Чувствительные пациенты	Стандартные дозы (каберголин < 3мг/нед)	N	↓ ≥ 50%
Частичная резистентность	Высокие дозы (каберголин ≥ 3мг/нед)	N	↓ ≥ 50%
		N	—↑
		N	↓ < 50%
		↓частичное	—↑
		↓частичное	↓ ≥ 50%
		↓частичное	↓ < 50%
		—↑	↓ < 50%
		—↑	↓ ≥ 50%
Полная резистентность		—↑	—↑

Уровень ПРЛ: N- нормализация уровня ПРЛ; ↓частичное – частичное снижение уровня ПРЛ с клиническим эффектом; —↑ - прежний повышенный уровень ПРЛ или незначительное повышение.

Объем аденомы: ↓ ≥ 50% - уменьшение на 50% и более; ↓ < 50% - уменьшение менее чем на 50%; —↑- прежний объем аденомы или рост.

Встречаются ситуации, когда на фоне продолжительного лечения размеры аденомы гипофиза уменьшаются, но менее чем на 50% от исходных. В то же время на фоне длительного применения агонистов дофамина ПРЛ может значительно снизиться, но не достигать референсных значений, и при этом можно достичь улучшения клинической картины заболевания – у женщин возобновления менструального цикла и даже наступления беременности, у мужчин - повышения потенции, улучшения показателей спермограммы. Некоторые пациенты могут давать дискордантный ответ на лечение, т.е., например, уровень ПРЛ может нормализоваться без изменения размера опухоли, и, реже, размер опухоли может уменьшаться с незначительными изменениями уровня ПРЛ [29].

Истинную резистентность к агонистам дофамина следует отличать от непереносимости данных препаратов, когда побочные эффекты препятствуют их использованию в адекватной дозе.

В европейском открытом проспективном многоцентровом исследовании оценивали эффективность и переносимость каберголина у 162 женщин с гиперпролактинемией различного генеза [159]. Побочные явления были зарегистрированы у 64 пациенток (39,5%). В 84% случаев побочных эффектов симптомы были легкой или средней степени тяжести и возникали в течение первых нескольких недель терапии. У 5 пациенток (3%) потребовалось прекращение терапии из-за плохой переносимости. Наиболее частые симптомы: головокружение (13% больных), головная боль (13%), тошнота (10%) и слабость и/или усталость (10%). Из 27 пациенток, которые ранее плохо переносили лечение другими агонистами дофамина, 17 (63%) не испытывали каких-либо побочных эффектов, и только у одной отмечена непереносимость каберголина.

В сравнительном исследовании каберголина и бромокриптина терапия была прекращена до окончания исследования по причине непереносимости у 27 (12%) женщин в группе бромокриптина и у 7 (3%) женщин в группе каберголина ( $p < 0,001$ ). В открытой фазе исследования соблюдение режима приема каберголина (два раза в неделю) было лучше, чем для бромокриптина (ежедневного 2 раза в день) – 18% женщин пропустили хотя бы одну дозу

каберголина и 44% женщин пропустили хотя бы одну дозу бромокриптина. В целом, побочные эффекты были менее частыми и менее тяжелыми при приеме каберголина (Таблица 3). Среди женщин, получавших бромокриптин, тошнота отмечалась значительно чаще ( $p<0,001$ ), была более тяжелой (9% по сравнению с 1% женщин, получавших каберголина, ( $p<0,001$ ), и сохранялась на более длительный срок. Кроме того, рвота возникала чаще и была тяжелее при приеме бромокриптина. О тяжелой рвоте сообщили 5% женщин, принимающих бромокриптин, и ни одна из женщин, получающих каберголин [160].

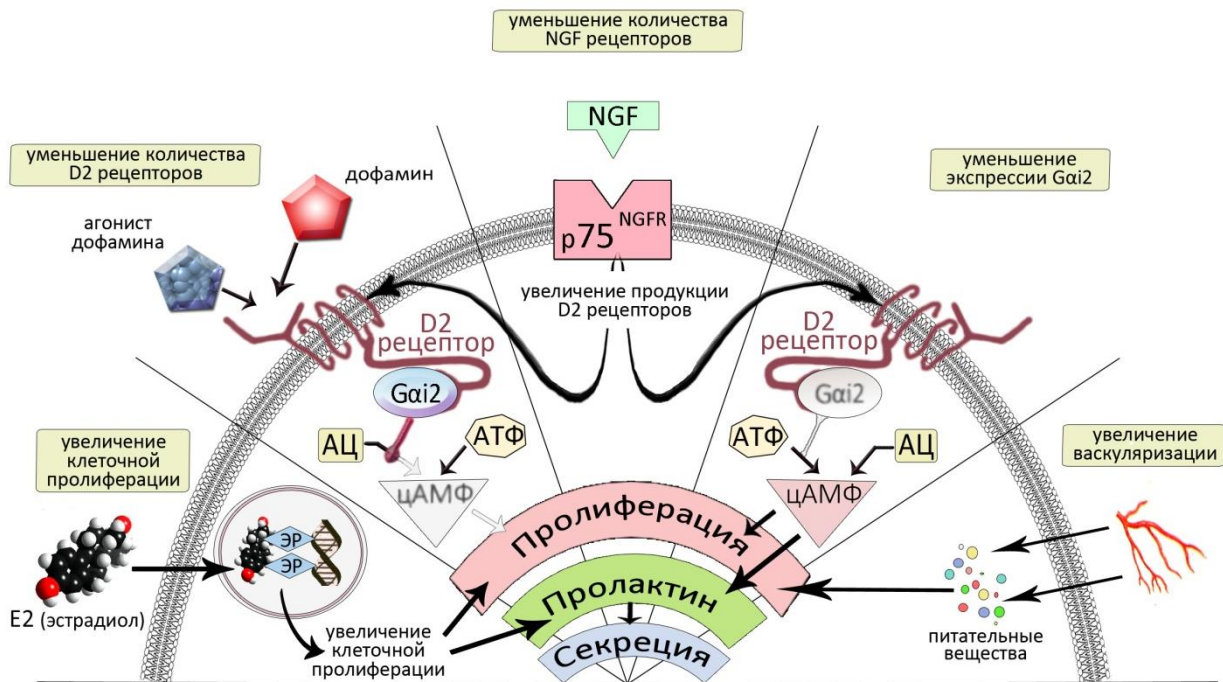
**Таблица 3 – Побочные эффекты при лечении агонистами дофамина – адаптировано из Webster J. и соавт [160]**

Побочный эффект	Бромокриптин (N=231)		Каберголин (N=221)	
	Число пациентов	%	Число пациентов	%
Тошнота	115	50	68	31
Рвота	22	10	10	4
Запор	21	9	15	7
Головная боль	68	29	66	30
Головокружение	59	26	55	25
Боль в животе, диспепсия, гастрит	45	20	34	15
Общая слабость	41	18	29	13
Боль в молочных железах	12	5	10	4
Депрессия	4	2	7	3
Приливы	5	2	7	3

### 1.2.2. Причины развития резистентности к агонистам дофамина

Биологические основы фармакологической резистентности к агонистам дофамина остаются до конца не изученными.

Исследователи выделяют 3 возможных механизма развития резистентности к агонистам дофамина: 1 – снижение экспрессии  $D_2$  –рецепторов, 2 – изменения в других рецепторах и белках, которые модулируют экспрессию  $D_2$ -рецепторов, 3 – изменения клеточных факторов, не связанных с  $D_2$ -рецепторами (Рисунок 1).



**Рисунок 1 – Возможные причины резистентности к агонистам дофамина – Oh MC, 2011, с модификациями [111]**

Исследования в основном сфокусированы на дофаминовых рецепторах. В исследовании Pellegrini I. и соавт. изучались клетки опухолей, полученных у пациентов с резистентностью к терапии агонистами дофамина [116]. На мембранах лактотрофов пролактином у пациентов, резистентных к лечению бромокриптином, отмечалось уменьшение плотности D<sub>2</sub>-рецепторов на 10% от исходного числа рецепторов опухолевых клеток, чувствительных к терапии. В то же время сродство дофаминовых рецепторов к субстрату было сходным с таковым, полученным на чувствительных к бромокриптину пролактиномах.

В последующих исследованиях было показано четырехкратное снижение содержания м-РНК  $D_2$ -рецепторов в клетках резистентных к терапии пролактином. Другие исследования также подтвердили снижение числа  $D_2$ -рецепторов на мембране опухолевых клеток [27, 90, 115].

Полиморфизм гена D<sub>2</sub>-рецептора также играет роль в формировании резистентности к агонистам дофамина. Замена цитозина на тимин в положении 957 в аллеле D2 NcoI-T + связано с быстрым распадом мРНК, что в 50% случаев

приводит к снижению образования  $D_2$ -рецепторов в культуре клеток [62].  $D_2$  NcoI-T+ аллель был найден в пролактиномах, не достигших нормализации ПРЛ, при применении высоких доз каберголина в 57%, по сравнению с 45% в пролактиномах с нормализацией ПРЛ после применения каберголина ( $p = 0,04$ ), и в 70% пролактином, у которых не наблюдалось уменьшения размеров опухолевой ткани, по сравнению с 41% пролактином, размер которых уменьшился ( $p = 0,006$ ) [62]. Таким образом, данный полиморфизм в большей степени влияет на размеры аденомы в ответ на лечение агонистами дофамина.

Свой вклад в формирование резистентности к агонистам дофамина может вносить нарушение баланса между короткой и длинной изоформами  $D_2$ -рецептора в лактотрофах. Образование двух изоформ  $D_2$ -рецептора, короткой (D2S) и длинной (D2L), происходит путем альтернативного сплайсинга. Обе изоформы рецептора ингибируют секрецию ПРЛ. В исследовании Caccavelli L. и соавт. выявлено снижение уровня D2S в резистентных к агонистам дофамина пролактиномах [27], что подтверждается в недавнем исследовании Wu Z.B. и соавт. [165]. Исследовали ткани аденом 20 пациентов с пролактиномами, из которых 14 были чувствительны и 6 резистентны к агонистам дофамина. Образцы ткани опухоли были исследованы методом количественной ПЦР. Экспрессия D2S мРНК была в 2,5 раза выше в группе чувствительных пациентов ( $13,5 \pm 10,4$  и  $5,4 \pm 2,4$ , соответственно,  $P = 0,09$ ). Хотя в обоих исследованиях не было найдено различия в уровне D2L, соотношение D2S/D2L все же значительно отличается в чувствительных и резистентных опухолях [27, 165]. Также значительно отличалась экспрессия D2SmРНК при сравнении инвазивных и неинвазивных опухолей ( $6,2 \pm 3,6$  и  $17,0 \pm 11,2$ , соответственно,  $p = 0,02$ ). Низкая экспрессия D2SmРНК в инвазивных опухолях позволяет предположить, что инвазивные пролактиномы чаще могут быть резистентными к агонистам дофамина [165]. Следует отметить, что в японском исследовании 12 пациентов, 6 из которых были чувствительны и 6 резистентны к лечению, выявлено снижение D2L в 3 раза в опухолях резистентных пациентов [132]. Тем не менее,

патофизиологическая значимость изоформ  $D_2$ -рецептора в пролактиномах требует дальнейшего исследования [78].

При дальнейшем изучении механизмов резистентности к терапии агонистами дофамина были выявлены патологические изменения в системе G-белков, опосредующих эффекты дофамина на рецептор. Угнетающее действие дофамина на экспрессию гена ПРЛ оказывается через систему  $D_2$ -рецептор –  $G_{i2}$ -белки [164].  $D_2$ -рецепторы соединены с субъединицей  $G_{i2}$ , которая ингибирует фермент аденилатциклазу, который в свою очередь влияет на концентрацию цАМФ. Таким образом, активация  $D_2$ -рецептора приводит к снижению цАМФ, угнетая экспрессию гена ПРЛ [44]. В клетках пролактином, резистентных к агонистам дофамина, было выявлено снижение выработки  $G_{i2}$ -белков, и эти изменения коррелировали со снижением экспрессии м-РНК  $D_2$ -рецептора [28].

Другой причиной изменения экспрессии  $D_2$ -рецептора, является рецептор фактора роста нервов (NGF-рецептор). В ряде исследований показано, что активация NGF-рецептора (подтип p75NGFR) приводит к повышению экспрессии  $D_2$ -рецептора, активируя ядерный фактор транскрипции каппа активированных В-клеток (NF-каппаВ) [63, 134]. NGF опосредованный механизм ингибирует пролиферацию клеток и опухолевую прогрессию в чувствительных к терапии агонистами дофамина пролактиномах, и теряет свою значимость в устойчивых к лечению пролактиномах [104, 152]. В исследовании 17 пролактином (9 резистентных и 8 чувствительных к применению агонистов дофамина) показано снижение экспрессии NGF рецептора более чем в 25 раз и снижение экспрессии  $D_2$  рецептора почти в 10 раз в пролактиномах, резистентных к агонистам дофамина, по сравнению с чувствительными пролактиномами [115].

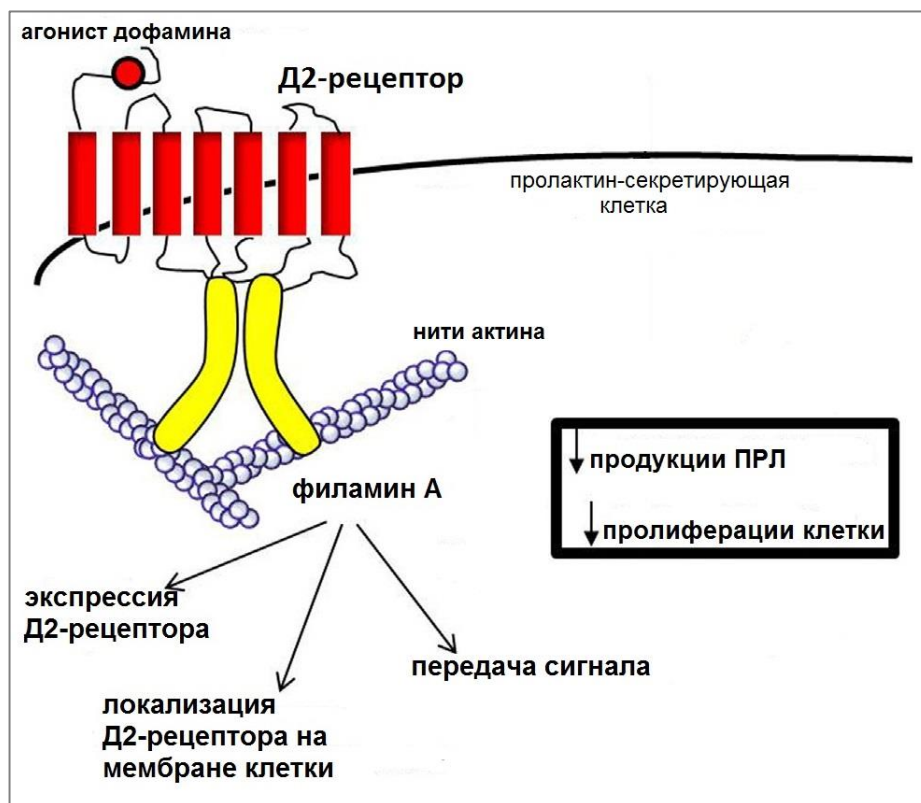
В последнее время активно изучается роль белков цитоскелета в сложном механизме фармакологической резистентности к агонистам дофамина. Один из главных белков цитоскелета – филамин – кроме основной роли структурного белка, служит матрицей для сборки сигнальных молекул и передачи сигнала [138].

К настоящему времени известны три изоформы филамина млекопитающих — А, В и С, которые кодируются разными генами, расположенными на половой Х хромосоме, а также на 3 и 7, соответственно. Первичные структуры этих изоформ имеют высокую гомологию (от 60 до 80 %), за исключением двух «hinge» (петлевидных) участков, характеризующихся большим разнообразием последовательностей аминокислот. Филамин А синтезируется в большом количестве в немышечных клетках практически всех тканей. Филамин В также находят во многих тканях, но его содержание зависит от типа ткани. Филамин С экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах и миокарде [59].

Взаимодействие филамина А с  $D_2$ -рецептором было впервые продемонстрировано Li M. и соавт. с помощью метода двойной гибридизации [95]. Интересно отметить, что присоединение филамина А к  $D_2$ -рецептору усиливает эффективность связывания  $D_2$ -рецептора и аденилатциклазы и играет определенную роль в ориентации  $D_2$ -рецептора в клеточной мембране.

Почти одновременно еще одно исследование, проведенное на клеточных линиях, подтвердило специфическую ассоциацию  $D_2$ -рецептора с филамином А, более четко определив специфические области взаимодействия: для филамина А — 19 повторение, и для  $D_2$ -рецептора — 211-241 аминокислоты на N-конце в третьей петле [96].

Подобные эффекты филамина А по регулированию  $D_2$ -рецептора также были найдены в пролактинсекретирующих опухолях гипофиза (Рисунок 2). Показано, что снижение числа  $D_2$ -рецепторов в пролактиномах, резистентных к агонистам дофамина, сопровождается низким уровнем филамина А [117].



**Рисунок 2 – Влияние филамина А на D<sub>2</sub>-рецептор –**  
**Peverelli E., 2015, с модификациями [118]**

В исследовании *in vitro* показано, что изменение уровня филамина А в первичных культурах клеток пролактином приводит к соответствующим модификациям уровня D<sub>2</sub>-рецептора, тем самым демонстрируя, что эти два события связаны между собой. Выключение гена филамина А в клетках чувствительных пролактином индуцировало значимое снижение уровня D<sub>2</sub>-рецепторов, тогда как гиперэкспрессия филамина А в клетках резистентных пролактином была связана с усилением экспрессии D<sub>2</sub>-рецептора [117].

В эксперименте на животных было показано, что филамин А влияет не только на положение D<sub>2</sub>-рецептора на поверхности клетки, но и защищает D<sub>2</sub>-рецептор от лизосомальной деградации [117]. Так как филамин А напрямую связан с аррестином [126], который в свою очередь вовлечен в обменный цикл D<sub>2</sub>-рецептора [88], можно предположить, что образованный комплекс D<sub>2</sub>-рецептор-филамин А- аррестин задействован в регуляции стабильности D<sub>2</sub>-рецептора. Также продемонстрирован защитный эффект филамина А от нестабильности для

других рецепторов, в том числе кальций-чувствительного рецептора, рецептора кальцитонина [128, 169].

Помимо основной структурной роли в закреплении D<sub>2</sub>-рецептора на мембране клетки, регуляции локализации и стабильности D<sub>2</sub>-рецептора, филамин А играет дополнительную функциональную роль как поддерживающая структура для сигнальных молекул, участвующих в передаче сигнала от D<sub>2</sub>-рецептора. Филамин А участвует также в регуляции взаимодействия дофаминового рецептора с G-белками. При недостатке филамина А в клетке наблюдаются редукция комплекса рецептор-G-белок и нарушение проведения сигнала, что говорит об участии филамина в осуществлении взаимодействия связи рецептора с G-белком [88].

Поскольку филамин А играет ключевую роль в экспрессии D<sub>2</sub>-рецептора и в сигнальном пути в лактотрофах, снижение его экспрессии может быть одной из причин потери ответа на агонисты дофамина у пациентов с пролактиномами. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения молекулярной основы снижения экспрессии филамина А в пролактиномах, резистентных к агонистам дофамина.

Изучение литературы показывает основную роль снижения количества D<sub>2</sub>-рецепторов и влияющих на это факторов в механизме развития резистентности к агонистам дофамина, однако следует выделить факторы, не связанные с D<sub>2</sub>-рецепторами.

Установлено, что эстрогены являются естественными стимуляторами секреции ПРЛ, и, соответственно, способны снижать эффективность лечения агонистами дофамина. Эстрогены приводят к уменьшению числа D<sub>2</sub>-рецепторов лактотрофов, таким образом, уменьшая ингибирующие эффекты дофамина. Эстрогены способны и непосредственно влиять на транскрипцию гена ПРЛ, стимулировать митотическую активность лактотрофов [136]. Наличием в ткани аденом гипофиза эстрогеновых рецепторов объясняет попытки применения селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов для лечения аденом гипофиза.

Усиленный кровоток, связанный с увеличением ангиогенеза, может обеспечить поступление большего количества питательных веществ в клетки, что способствует пролиферации [111].

Дополнительные факторы, влияющие на агрессивность аденом, могут мешать действию агонистов дофамина или оказывать противоположное действие на лактотрофы. К ним относятся компоненты внеклеточного матрикса – ламинин, специфические ферменты из семейства матриксных металлопротеиназ [72, 162], повышенная экспрессия генов, участвующих в пролиферации клеток [122, 162] и снижение экспрессии генов-супрессоров опухолей [72]. *MEN1* и *AIP* способны негативно влиять на ответ пациентов с пролактиномами на лечение агонистами дофамина [41,42,153].

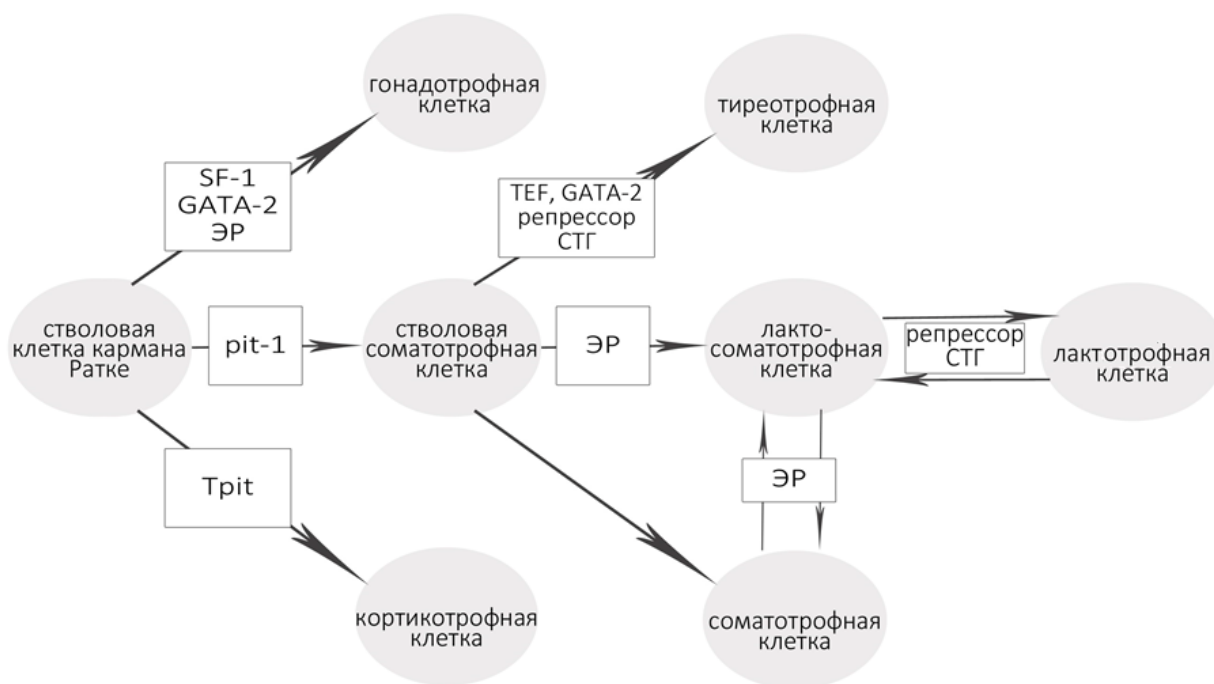
Литературные данные свидетельствуют о наличии различных причин развития резистентности к агонистам дофамина у больных с пролактинсекретирующими опухолями гипофиза. Необходимы дальнейшие исследования на бóльших группах пациентов с пролактиномами для изучения патогенеза развития резистентности к агонистам дофамина.

### **1.3. Морфологическая характеристика пролактином**

Передняя доля гипофиза возникает из эпителия верхней части ротовой ямки (кармана Ратке) еще до образования костей основания черепа. Карман Ратке превращается в эпителиальный мешочек и растет в направлении закладки головного мозга. В конце первого, начале второго месяца внутриутробного развития он приходит в контакт с зачатком задней доли и отшнуровывается от верхней части ротовой полости. С этого момента начинается дифференцировка клеток передней доли.

Гипофиз состоит, по меньшей мере, из шести различных типов клеток, и каждая клетка несет ответственность за выработку и секрецию одного или нескольких гормонов. Последние достижения в области молекулярной биологии

объясняют дифференцировку клеток аденогипофиза [14, 15]. Выявлены специфические факторы транскрипции, которые играют роль в развитии аденомы гипофиза, такие как *Trpit*, *pit-1*, *GATA-2*, *SF-1* [16, 64, 83] (Рисунок 3).



**Рисунок 3 – Дифференцировка клеток аденогипофиза – адаптировано из Al-Brahim N.Y., 2006 [12]**

Кортикотрофы – первые клетки в дифференцировке аденогипофиза человека, их образование определяется кортикотропин-специфичным фактором транскрипции *Trpit* [92]. Вторая линия дифференцировки клеток аденогипофиза осуществляется через гипофиз-специфичный фактор транскрипции *pit-1*. Этот белок активирует гены гормонов СТГ, ПРЛ и ТТГ. *Pit-1* изначально определяет рост соматотрофов. Одновременная экспрессия рецептора эстрогена позволяет вырабатывать ПРЛ, помимо СТГ, в бигормональных лактосоматотрофах. Развитие лактотрофов зависит от наличия супрессора СТГ. Под воздействием тиреотропин-эмбрионального фактора (TEF) в присутствии репрессора СТГ и *GATA-2* первоначальные соматотрофы развиваются в тиреотрофы [127]. Третья линия дифференцировки клеток – гонадотрофы, развитие которых зависит от

стероидного фактора 1 (SF-1) и GATA-2 в присутствии эстрогеновых рецепторов [13].

Опухоли гипофиза, происходящие из различных типов клеток, могут иметь разную клиническую картину или не проявляться клиническими симптомами.

Некоторые опухоли со схожей клинической картиной имеют разные морфологические варианты, которые отражают различные патогенетические механизмы и ответ на лечение. В Таблице 4 приведена клинико-морфологическая классификация аденом гипофиза.

Традиционная морфологическая классификация аденом гипофиза, основанная на данных световой микроскопии, в зависимости от тинкториальных свойств опухолей выделяет оксифильные, базофильные, хромофобные и смешанные аденомы. Применение этой классификации ограничено, потому что один и тот же гормон может секретироваться клетками, имеющими различное отношение к красителям [7]. Исследование окрашенных гематоксилином и эозином препаратов с помощью светового микроскопа позволяет определить, что образование sellarной области состоит из клеток аденогипофиза, а также провести дифференциальную диагностику аденомы гипофиза с гиперплазией гипофиза и выявить злокачественный потенциал опухоли, что встречается крайне редко [113].

Более распространена классификация, проводимая с помощью иммуногистохимического (ИГХ) метода окрашивания, которая разделяет аденомы в зависимости от продуцируемых гипофизарных гормонов. В рамках этой классификации различают моногормональные, бигормональные и плюригормональные опухоли [45].

При окраске гематоксилином и эозином пролактиномы обычно хромофобны, и при ИГХ окрашивании ПРЛ выявляется в аппарате Гольджи вблизи ядер. Обычно пролактиномы моногормональны, иммуноэкспрессии других тропных гормонов не выявляется [81, 113].

**Таблица 4 – Клинико-морфологическая классификация аденом гипофиза. Ironside JW., 2003, с модификациями [81]**

Клинически активные аденомы	Клинически неактивные аденомы
Гиперсекреция ПРЛ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Лактотрофная аденома</li> <li>▪ Лактотрофная аденома с иммунореактивностью СТГ</li> </ul>	Неактивная лактотрофная аденома
Гиперсекреция СТГ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Соматотрофная аденома</li> <li>▪ Лактосоматотрофная аденома</li> </ul>	Неактивная соматотрофная аденома
Гиперсекреция АКТГ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Кортикотрофная аденома</li> </ul>	Неактивная кортикотрофная аденома
Гиперсекреция ТТГ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Тиреотрофная аденома</li> </ul>	Неактивная тиреотрофная аденома
Гиперсекреция ФСГ/ЛГ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Гонадотрофная аденома</li> </ul>	Неактивная гонадотрофная аденома
Плuriгормональная аденома	Гормоно-негативная аденома

Определенное значение имеет деление пролактинсекретирующих опухолей на основании данных электронной микроскопии в зависимости от числа внутриклеточных гранул на плотно гранулированные и редко гранулированные аденомы. Наиболее частый вид пролактином - редко гранулированный с небольшим количеством секреторных гранул диаметром 100-300 нм, и они, как правило, показывают высокую чувствительность к агонистам дофамина [12, 81]. Аденомы этого типа до применения агонистов дофамина состоят из хромофобных клеток с обильной цитоплазмой, хорошо развитым комплексом Гольджи и эндоплазматическим ретикулумом и характеризуются околядерной иммуноэкспрессией ПРЛ. Чаще аденомы состоят из мелких клеток в волокнистой строме, напоминающих клетки воспаления, плазмоцитомы или лимфоциты. Как правило, они имеют фокусную экспрессию ПРЛ. Плотно гранулированные пролактиномы встречаются редко и состоят из ацидофильных и хромофобных клеток, в которых диффузно расположено множество секреторных гранул диаметром около 600 нм, что дает диффузную, интенсивную, цитоплазматическую иммуногистохимическую реакцию с антителами к ПРЛ [12]. Для пролактином характерно наличие кальциевых включений, что нередко

позволяет уточнить диагноз, поскольку в других видах аденом эти компоненты встречаются чрезвычайно редко [91, 126].

При изучении пролактином, резистентных к терапии агонистами дофамина, были выявлены 4 гистологические особенности [111]: 1) повышение ангиогенеза, 2) клеточная атипия, 3) увеличение пролиферации, 4) высокая инвазивность. Эти изменения могут быть косвенным следствием пониженной передачи сигналов дофамина или они могут быть результатом еще не охарактеризованных мутаций, которые инициируют изменения в передаче сигнала. При этом данные гистологические изменения не приводят к малигнизации [49, 51, 72, 100, 170].

Гипотеза, что пролактиномы, резистентные к агонистам дофамина, обладают повышенным ангиогенезом, поддерживается недавним описанием клинического наблюдения 70-летнего мужчины с гигантской пролактиномой с экстракеллярным распространением в правую височную долю и устойчивостью к лечению каберголином. При иммуногистохимическом исследовании удаленной аденомы выявлена выраженная иммуноэкспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и фактора роста фибробластов 2 (FGF-2) - двух мощных факторов ангиогенеза, и эндотелиального маркера CD31, что указывает на высокую васкуляризацию аденомы [100]. Эти выводы, очевидно, требуют дальнейшего изучения на большей группе пациентов.

Исследование Delgrange E. и соавт. в 2005 г. показало, что в 6 (50%) из 12 пролактином, резистентных к бромокriptину, была выявлена клеточная атипия (большие/крупные многоядерные клетки, неравномерное распределение хроматина в ядрах и ядерный плеоморфизм) [51].

В этом же исследовании при сравнении резистентных и чувствительных к бромокriptину пролактином авторы обнаружили, более высокие показатели индекса метки Ki-67 у резистентных пролактином (5% по сравнению с 0,8% у чувствительных), а также выше число митозов (5 против 1 в поле зрения) [51].

Zornitzki T. и соавт. в 2004 г. наблюдали 55-летнего мужчину с пролактиномой, который изначально был чувствителен к агонистам дофамина, однако со временем перестал отвечать на лечение бромокriptином, а затем и

каберголином. В конечном счете пациент был прооперирован трижды, и в каждом морфологическом исследовании удаленной ткани отмечено увеличение индекса пролиферации Ki-67 [170].

Как известно, распространение аденомы в кавернозные синусы по данным МРТ чаще встречается в резистентных к медикаментозному лечению пролактиномах, чем в чувствительных [49]. Хотя на сегодняшний день в литературе не описаны гистологические признаки инвазивности пролактином, некоторые исследования показывают, что в аденомах гипофиза усиленная васкуляризация, увеличение размеров опухоли и высокая инвазивность часто встречаются вместе [43, 50, 166]. Поэтому макропролактиномы и инвазивные пролактиномы значительно более васкуляризованы, чем неинвазивные микропролактиномы [149]. Кроме того, было показано, что исходный уровень ПРЛ до назначения медикаментозного лечения коррелирует с повышенной плотностью микрососудов, которая соответствует высокой секреции ПРЛ [148]. В инвазивных макропролактиномах выявлена более высокая плотность микрососудов [148] и более высокий показатель Ki-67 [72], чем в неинвазивных макропролактиномах. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения клеточной атипии в отношении аденом, резистентных к каберголину, для поиска молекулярных изменений, отражающих пролиферацию и инвазивность аденом.

\*\*\*

Таким образом, при детальном рассмотрении вопросов лечения гиперпролактинемии опухолевого генеза становится очевидным ряд нерешенных вопросов: непереносимость терапии из-за развития побочных эффектов, резистентность к терапии, проблема длительности медикаментозного лечения.

Резистентность к терапии агонистами дофамина у пациентов с пролактиномами в клинической практике встречается нередко, преимущественно среди пациентов репродуктивного возраста. В связи с чем представляет интерес изучение особенностей клинической картины заболевания. Также нет общепринятых критериев резистентности к агонистам дофамина, и остается

открытым вопрос о ее причинах. Отсутствуют четкие подходы к решению данной проблемы, что определяет ее актуальность и требует дальнейшего изучения.

Кроме того, хирургическое лечение и лучевая терапия не всегда позволяют достичь стойкой ремиссии заболевания. Хирургическое лечение эффективно только в 40-60% случаев, что можно объяснить тем, что пролактиномы, резистентные к агонистам дофамина, зачастую имеют агрессивный рост с прорастанием в окружающие структуры [93, 110]. Лучевая терапия применяется редко, так как пролактиномы являются наименее радиочувствительными из гормоносекретирующих опухолей гипофиза, и эффективность лучевой терапии составляет лишь 20-30% [120]. Также проведение операции и лучевой терапии подразумевает потенциальный риск развития дефицита гормонов гипофиза, что нежелательно у молодых пациентов, основной жалобой у которых зачастую является бесплодие.

В литературе имеются работы по применению препаратов, не относящихся к группе агонистов дофаминовых рецепторов, таких как аналоги соматостатина, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов, темозоломид. Однако новые альтернативные фармакологические подходы к лечению таких пациентов требуют дальнейших исследований. Изучение гистологических особенностей, рецепторного профиля удаленных пролактином, исследование в них маркеров пролиферации и ангиогенеза послужат основой для определения новых подходов консервативного лечения и для выбора оптимальной тактики ведения таких пациентов.

## **Глава 2. Материалы и методы**

### **2.1. Материалы исследования**

В исследование были включены пациенты, наблюдавшиеся в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, г. Москва (директор – академик И.И. Дедов), в период с 2005 по 2015 гг. Данные о пациентах получены из историй болезни. Учитывая тот факт, что сбор данных проводился ретроспективно из архива глубиной в 11 лет, присутствует возможности исторического смещения, однако за это время критерии постановки диагноза, методы диагностики и лечения пролактином не изменились, в связи с чем в данном случае историческое смещение отсутствует.

На этапе планирования исследования проводилось широкое информирование сотрудников ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» и региональных центров эндокринологии о наборе пациентов с пролактиномами, резистентными лечению агонистами дофамина.

Рассмотрено 375 историй болезни (амбулаторных и стационарных) пациентов с подтвержденным диагнозом «Пролактинома», из которых были отобраны 57 резистентных к терапии агонистами дофамина случаев, что составило 15%, и 44 чувствительных, которые включены произвольным образом из числа имевшихся наблюдений.

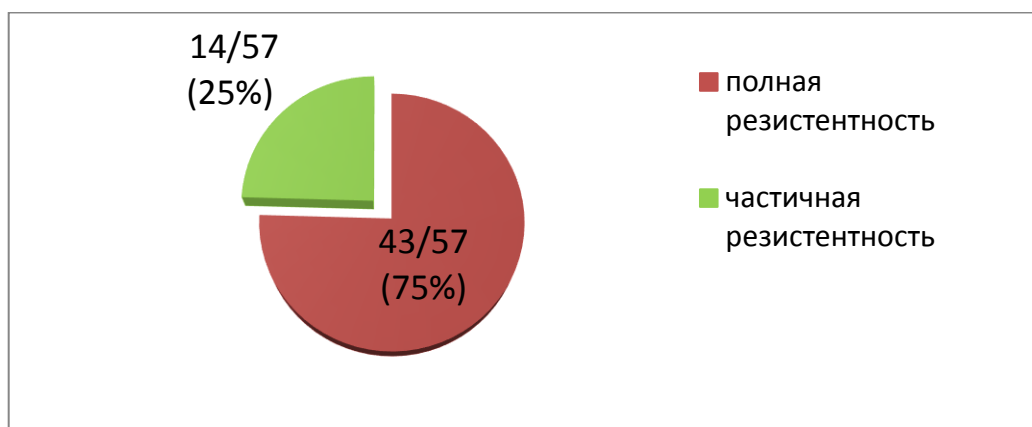
Исследование включало 3 этапа:

- 1 – ретроспективное исследование клинических особенностей пролактином, резистентных к лечению агонистами дофамина, в сравнении с чувствительными, а также морфофункциональных особенностей резистентных к лечению агонистами дофамина пролактином.
- 2 – одномоментное сравнительное исследование по изучению фармакокинетики каберголина у пациентов с пролактиномами.
- 3 – проспективное исследование по изучению эффективности и безопасности тамоксифена в лечении пролактином, резистентных к агонистам дофамина.

В работу включено 57 пациентов с резистентными к терапии агонистами дофамина пролактиномами (сплошная выборка) (Рисунок 5). В качестве группы сравнения в исследование включено 44 пациента с пролактиномами, чувствительными к лечению агонистами дофамина. Критериями исключения были возраст меньше 18 лет, гиперпролактинемия неопухолевого генеза, абсолютные показания к оперативному лечению при первичной диагностике пролактиномы.

В качестве критериев резистентности приняты отсутствие нормализации пролактина сыворотки крови и/или уменьшения размеров опухоли на 50% и более на фоне терапии агонистами дофамина в дозе 3 мг/нед и более в течение 6 месяцев и дольше.

Выделены разные варианты резистентности: полная и частичная (Рисунок 4). Полная резистентность характеризовалась повышенным уровнем ПРЛ в крови и отсутствием уменьшения объема опухоли на 50% и более от исходного на фоне приема 3 мг каберголина в неделю (n=43). Пациенты из группы частичной резистентности имели некоторые отличия. Из них у 5 отмечена лабораторная резистентность по уровню ПРЛ, когда сохранялась гиперпролактинемия, а размер опухоли уменьшился на 50% и более (у одной пациентки размер аденомы остался прежний, однако появился значительный кистозный компонент, что расценено как уменьшение объема опухолевой ткани). Четыре пациента имели резистентность по объему опухоли, когда уровень ПРЛ нормализовался на фоне приема каберголина, но объем аденомы остался прежний и без изменений структуры опухоли в виде появления кистозного компонента. У пяти пациентов отмечена умеренная резистентность, характеризующаяся нормализацией уровня ПРЛ и уменьшением размеров аденомы на 50% и более на фоне приема высоких доз каберголина (3-5 мг/нед).



**Рисунок 4 – Варианты резистентности у пациентов с пролактиномами**

Пациентам, чувствительным к терапии агонистами дофамина, оперативное лечение не проводилось. Резистентность к терапии агонистами дофамина является показанием к проведению аденомэктомии. Из 57 резистентных пациентов в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий нейрохирургическим отделением – проф., д.м.н. А.Ю. Григорьев) 36 выполнено оперативное лечение. Оперативное лечение не проводилось пациентам с частичной резистентностью к терапии агонистами дофамина, а также при отказе от проведения операции.

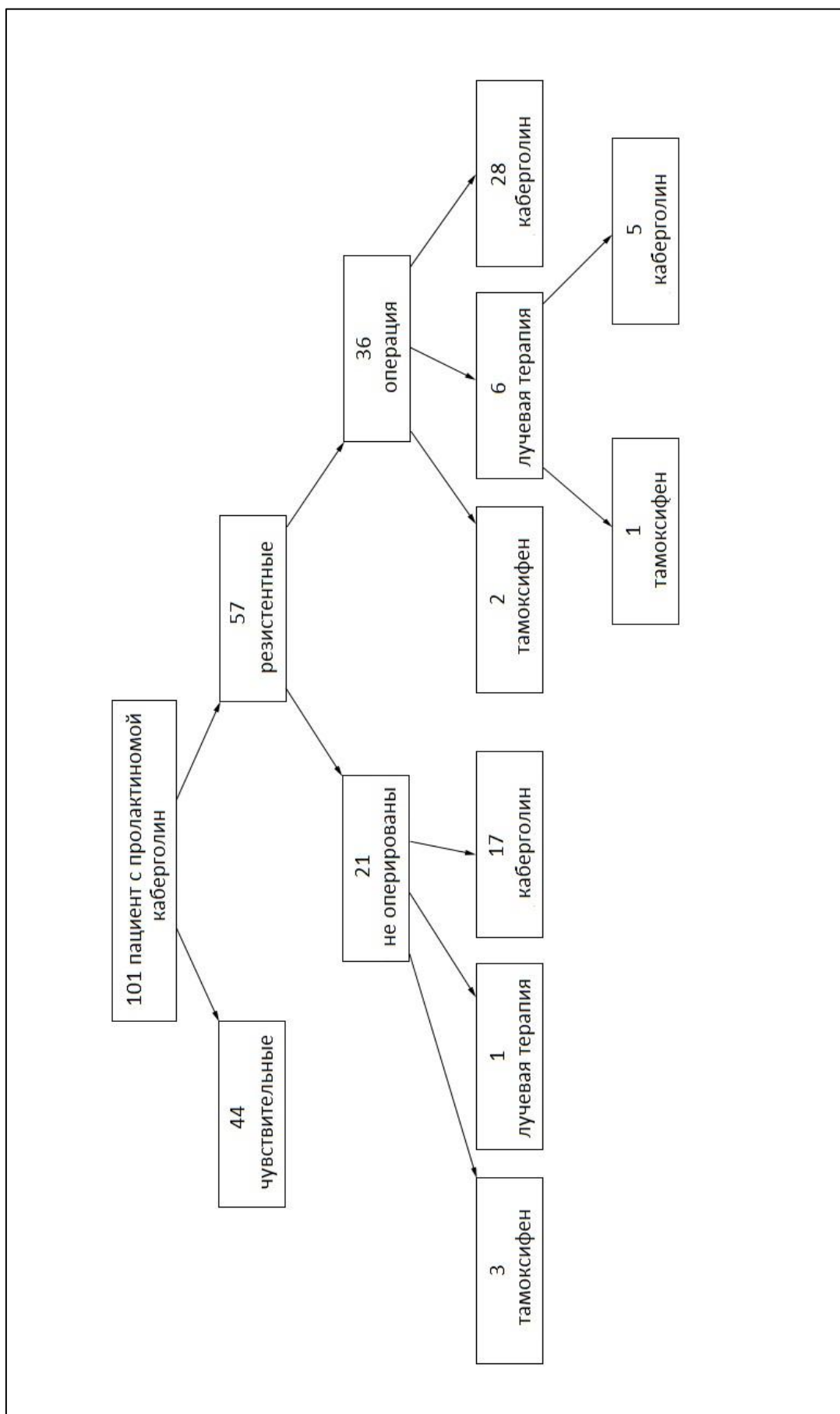
Гистологическое исследование проведено 32 из 36 оперированных больных. В 4 случаях послеоперационный материал представлен фрагментами адено- и нейрогипофиза, свертками крови, деформирован в результате коагуляции, в связи с чем оценка свойств опухоли не представлялась возможным. Для проведения и иммуногистохимического анализа были отобраны парафиновые блоки аденом гипофиза, удаленных в ходе трансназальной/транскраниальной аденомэктомии, в которых объем тканей был достаточен для выполнения анализа (n=20).

Определение уровня каберголина в ходе фармакокинетической пробы с каберголином методом хроматографии проведено 10 пациентам с пролактиномами.

Однократное определение уровня каберголина в плазме крови методом масс-спектрометрии на фоне длительного постоянного приема каберголина выполнено 28 пациентам с пролактиномами, из них 8 чувствительные к терапии

агонистами дофамина, 20 – резистентные. Определение уровня каберголина в плазме крови методом масс-спектрометрии в ходе фармакокинетической пробы выполнено 12 пациентам, из которых 3 чувствительные к терапии агонистами дофамина, 9 – резистентные.

В ходе нашей работы проведено пилотное проспективное исследование по изучению эффективности и безопасности применения тамоксифена у 6 пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина. На визите инициации терапии тамоксифен назначался в начальной дозе 20 мг в сутки в дополнение к каберголину, доза которого не менялась. При отсутствии нормализации ПРЛ через 1 месяц приема тамоксифена его доза увеличивалась до 40 мг в сутки. Данную комбинированную терапию пациентки получали в течение 3 месяцев.



**Рисунок 5 – Группы и подгруппы пациентов**

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Клиническое обследование**

В рамках клинического обследования изучены демографические сведения о пациентах (пол, возраст на момент обращения), длительность заболевания, первые симптомы заболевания, жалобы, анамнез основного заболевания, анамнез жизни, гинекологический анамнез у женщин. Всем пациентам проводили общий клинический осмотр с определением массы тела, расчетом индекса массы тела, оценкой лакторей, измерением АД.

### **2.2.2. Лабораторное обследование**

Исследование гормонов в крови осуществлено в гормональной лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии», зав. лабораторией – проф., д.м.н. Гончаров Н. П. Определение уровней ПРЛ, эстрадиола, тестостерона, ЛГ, ФСГ крови проводилось методом ИХЛА на автоматизированной системе Vitros 3600 (Johnson & Johnson, США). Определение содержания биологически активного мономерного ПРЛ проводилось с использованием ПЭГ-преципитации (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария). Забор венозной крови проводился из кубитальной вены в утренние часы (с 9 до 11 часов), у пациенток с сохраненным циклом – на 5-7 день менструального цикла.

Биохимическое исследование крови выполнено в клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» (заведующий лабораторией – А.В. Ильин). С целью оценки безопасности применения тамоксифена шести пациентам выполнено определение уровней глюкозы, кальция общего, натрия, калия, АЛТ, АСТ, креатинина, билирубина (исследование выполнено на анализаторе Architect plus C 4000, Abbott Diagnostics, США), общий анализ крови (с обязательной оценкой уровня лейкоцитов, тромбоцитов) - автоматический анализатор Sysmex XE-2100 D, Sysmex, Япония.), коагулограмма - ACL Elite Pro, Instrumental Laboratory.

### 2.2.3. Инструментальное обследование

Оценка зрительной функции проводилась всем пациентам с макропролактиномами и включала определение остроты зрения, измерение внутриглазного давления, осмотр глазного дна и оценка состояние диска зрительного нерва. Наличие или отсутствие ограничения полей зрения диагностировалось на основании результатов компьютерной периметрии.

Для оценки размера, характера распространения и структуры аденомы гипофиза проанализированы МР-томограммы, выполненные в отделении лучевой диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» (заведующий отделением – проф., д.м.н. А.В. Воронцов). Объем опухоли (V) был рассчитан способом, предложенным рентгенологами G. Di-Chiro и K.B. Nelson для измерения объема гипофиза:  $V = 0,5 \times L \times W \times T$ , где L- высота аденомы, W- ширина, T- передне-задний размер (толщина), выраженные в см. На основании данных МРТ проанализирован рост аденомы (супра-, пара-, ретро-, инфра- и антеселлярно).

### 2.2.4. Методы морфологического исследования

Морфологическое исследование проведено в отделении патоморфологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» (зав. отделением – проф., д.м.н. А. Ю. Абросимов). Морфологический анализ операционного материала включал гистологический и иммуногистохимический (ИГХ) методы исследования.

Послеоперационный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине на протяжении 24 часов. После фиксации проводили обезвоживание, уплотнение и заливку материала в парафин по стандартной методике. Для гистологического исследования серийные срезы толщиной 3-5 мкм депарафинировали по стандартной схеме и окрашивали гематоксилином и эозином.

Для подтверждения диагноза окрашенные гематоксилином и эозином гистологические препараты были пересмотрены при помощи светового микроскопа. При этом уточнены следующие характеристики опухолей:

тинкториальные свойства (оксифильная, базофильная, хромофобная, смешанная), структура (солидная, трабекулярная, смешанная), наличие кровоизлияния, очагов некроза, фиброза, фигур митоза.

Непрямое ИГХ исследование выполнено на послеоперационном материале (n=20) с антителами к тропным гормонам (ПРЛ, СТГ, ЛГ, ФСГ, ТТГ, АКТГ), к рецепторам (D<sub>2</sub>-рецепторы, ССР2, ССР5, ЭР $\alpha$ ), маркеру клеточной пролиферации Ki-67, маркеру ангиогенеза CD34. Характеристика первичных антител приведена в Таблице 5.

Гистологические срезы для ИГХ-исследования были нанесены на стекла с адгезивным покрытием (Menzel-Glaser), депарафинированы, выдержаны в 3% растворе перекиси водорода в течение 10 минут для подавления активности эндогенной пероксидазы, затем термически обработаны в цитратном буфере (pH=6,0) в микроволновой печи в течение 15 минут для восстановления антигенов опухолевой ткани. Далее охлажденные при комнатной температуре срезы были промыты в дистиллированной воде и фосфатном буфере, после чего на них нанесены первичные антитела.

Инкубация с первичными антителами составляла 40 минут при температуре 37°C, затем срезы тщательно отмывали в фосфатном буфере, после чего на срезы наносили вторичные антитела к кроличьим и мышинным иммуноглобулинам, связанные с системой визуализации, не содержащей биотин (Dako REAL EnVision Detection System, Дания) на 30 минут при температуре 37°C. После отмывания вторичных антител в фосфатном буфере срезы окрашивали диаминобензидином в течение 5 минут, что позволяло получать соответственно специфическую коричневую окраску. На последнем этапе производили окрашивание ядер гематоксилином Майера в течение 2-4 минут с последующим обезвоживанием в серии спиртов с повышающейся концентрацией и ксилолов по стандартной схеме и заключением срезов в синтетическую среду.

**Таблица 5 – Характеристика использованных первичных антител**

Название	Характеристика	Фирма производи- тель	Разве- дение	Положительный контроль
Анти-ПРЛ	мышинные/моноклональные	Dako	1:600	гипофиз
Анти-СТГ	мышинные/моноклональные	Dako	1:600	гипофиз
Анти-ЛГ	мышинные/моноклональные	Dako	1:50	гипофиз
Анти-ФСГ	мышинные/моноклональные	Dako	1:50	гипофиз
Анти-ТТГ	мышинные/моноклональные	Dako	1:50	гипофиз
Анти-АКТГ	мышинные/моноклональные	NovoCastra	1:100	гипофиз
Анти-Ki-67	мышинные/моноклональные	Dako	1:50	лимфома
Анти-СР2	кроличьи/моноклональные	Epitomics	1:150	островковые клетки поджелудочной железы
Анти-СР5	кроличьи/моноклональные	Epitomics	1:150	островковые клетки поджелудочной железы
Анти-ДР2	кроличьи/поликлональные	Novus Biologicals	1:150	гипофиз
Анти-Эра	мышинные/моноклональные	Dako	1:35	молочная железа
Анти-CD34	мышинные/моноклональные	Dako	1:50	ткань папиллярного рака щитовидной железы

Иммуноэкспрессия тропных гормонов была оценена в цитоплазме опухолевых клеток, ССР2, ССР5, Д<sub>2</sub>-рецепторов – в цитоплазме и на мембране опухолевых клеток, Ki-67, Эра – в ядрах клеток аденом, CD34 – в цитоплазме эндотелиальных клеток сосудов опухолей. Участки некроза, выраженного фиброза, кровоизлияния, гиперплазии аденогипофиза при анализе исключались.

ИГХ реакцию на СТГ считали положительной при окрашивании более 50% опухолевых клеток, на ПРЛ – более 30%, на АКТГ – более 20%, на ЛГ и ФСГ – более 10%, на ТТГ – более 5%. Такой метод оценки выбран для исключения ложноположительных результатов, связанных с возможным попаданием клеток аденогипофиза во время транссфеноидальной аденомэктомии в исследуемый

материал. Проценты отражают долю, которую составляют соматотрофы, пролактотрофы и гонадотрофы от всех клеток нормального гипофиза [98].

ИГХ реакцию на Д<sub>2</sub>-рецепторы считали положительной при окраске более 30% опухолевых клеток в 10 полях зрения при увеличении микроскопа х40.

Оценка иммуноэкспрессии ССР2 и ССР5 проводилась по шкале, предложенной Volante M. и соавт. 0 баллов – отсутствие экспрессии, 1 балл – только цитоплазматическое окрашивание, 2 балла – полное или частичное мембранное окрашивание менее 50% опухолевых клеток, независимо от наличия цитоплазматического окрашивания, 3 балла – полное мембранное окрашивание более 50% опухолевых клеток вне зависимости от цитоплазматического [155]. Причем авторы предлагают считать экспрессию положительной при 2 баллах и выше.

Для оценки иммуноэкспрессии ЭРа рассчитывалась сумма баллов по формуле:  $\Sigma = a + b$ , где

**a** – количество окрашенных клеток от 0 до 5 баллов, где 0 – отсутствие окраски, 1 балл – единичные клетки, 2 балла – до 1/10 всех клеток, 3 балла – 1/10 – 1/3 клеток, 4 балла – 1/3 – 2/3 клеток, 5 баллов – более 2/3 клеток;

**b** – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3, где 0 баллов реакция отсутствует, 1 балл – слабая, 2 балла – умеренная, 3 балла – выраженная.

Положительный результат для ЭРа определялся при  $\Sigma \geq 3$  (Рисунок 6).

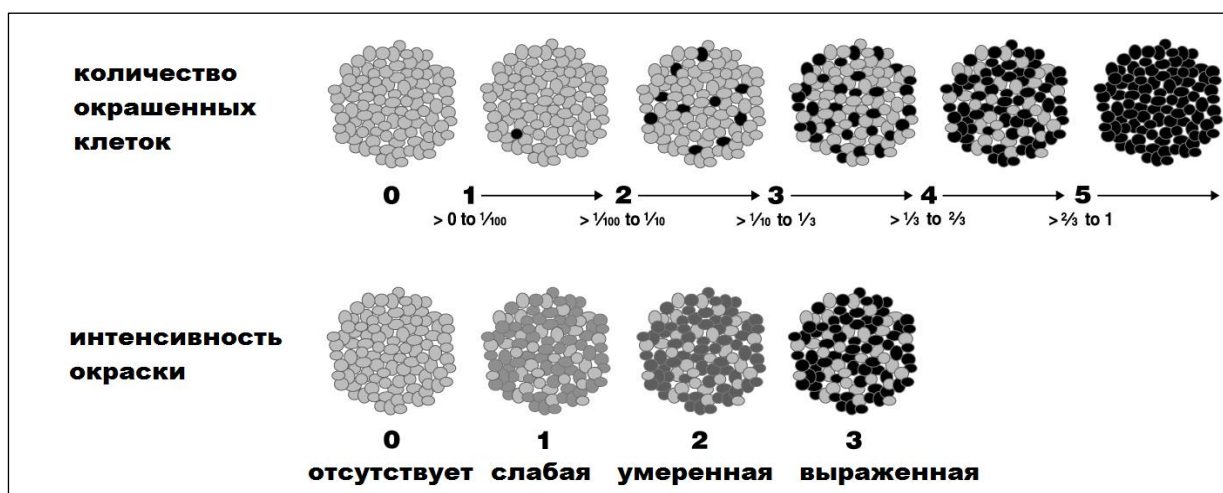


Рисунок 5 – Оценка экспрессии ЭРа

Иммуноэкспрессия Ki-67 оценивалась в ядрах клеток новообразований. Показатель пролиферации Ki-67 вычисляли как среднее число Ki-67-положительных ядер в поле зрения микроскопа (увеличение x40) при исследовании не менее 5 полей зрения.

Количество сосудов опухоли определяли, подсчитав среднее число сосудов в препаратах, окрашенных на CD34, в 5 полях зрения при увеличении x40. При этом единичные CD34-позитивные эндотелиальные клетки или скопления иммунореактивных эндотелиальных клеток, расположенные обособленно от других сосудов, были подсчитаны как отдельные объекты.

#### 2.2.5. Фармакокинетическая проба

*Протокол фармакодинамической пробы:*

Проба проводилась через 7 дней после планового приема каберголина. Для определения каберголина в плазме крови утром в 9.00 проводился забор крови (0 минута), сразу после чего пациент принимал 1 таблетку каберголина (0,5 мг) внутрь, далее проводился забор крови через 30, 120 и 240 минут после приема препарата, то есть в течение времени, за которое достигается максимальная концентрация каберголина в плазме. Забор крови проводился в пробирки вакутейнеры с ЭДТА. Кровь центрифугировали сразу после забора при скорости 3500 оборотов в минуту в течение 30 минут в холодной центрифуге, далее отделенная плазма разливалась в эппендорфы по 1,5 мл и хранилась при температуре -40С.

#### Определение уровня каберголина методом хроматографии

Методика разработана в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» (директор института д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, Дурнев А. Д., научный руководитель института д.м.н., профессор, академик РАН Середенин С.Б.) сотрудниками лаборатории нейрохимической фармакологии (к.м.н., Кудрин В.С., к.б.н. Клодт П.М.)

Хроматографическое исследование образцов проводилось на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США) с ультрафиолетовым детектором с диодной матрицей. Колонка Phenomenex Synergy 4mkM Max-Pr 80A 150x4.6mm. Измерение проводилось по поглощению на длине 280nm.

#### Определение уровня каберголина методом масс-спектрометрии

Для проведения исследования фирмой производителем (Pfizer) предоставлена чистая субстанция каберголина, таким образом было исключено влияние вспомогательных веществ, добавленных в состав таблетки, на результаты исследования.

Методика разработана в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» (зав. отделением проф., д.м.н. Тюльпаков А.Н.). Использовался метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения данного вещества в плазме крови пациентов. Получена стандартизированная система, в состав которой входит каберголин химической очистки более 99% (Sigma Chemical, USA), ацетат аммония химической очистки более 97% (Fisher Scientific, UK), ацетонитрил, метанол и вода (Merck, Germany). Используется хроматограф PE Flexar FX-20 UHPLC (PerkinElmer, USA), на колонке размером 100X2,1 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом «BEH C18» с размером частиц 1,7 мкм (Waters, USA). Детектирование проводится на квадрупольном tandemном масс-спектрометре AB Sciex 5500 (AB Sciex, USA) с ионизацией в электроспрее в режиме сканирования положительных ионов. Концентрация каберголина в плазме определяется с помощью построения калибровочной кривой (0 – 500 пг/мл).

#### 2.2.6. Методы статистического анализа

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows v.10 (StatSoft inc., USA).

Количественные данные приведены в виде медиан и квартилей (1 и 3 квартили) –  $Me [Q_1; Q_3]$ , также указаны минимальное и максимальное значения показателя. В случае качественных признаков результаты представлены в виде долей с указанием 95% доверительного интервала (ДИ) относительных частот.

Сравнительный анализ независимых групп по количественному признаку проведен с помощью критерия Манна-Уитни (КМУ), по качественному признаку – с использованием двустороннего точного критерия Фишера (ТКФ). Для сравнения зависимых групп применен критерий Вилкоксона. В случае, когда число повторных измерений было более двух, для оценки различий между параметрами применялся ранговый дисперсионный анализ Фридмана (ANOVA Фридмана). Взаимосвязь изучаемых признаков определена с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Значение  $p$  от 0,05 до 0,07 интерпретировалось как статистическая тенденция. Для нивелирования проблем множественных сравнений в некоторых случаях применялась поправка Бонферрони.

### Глава 3. Результаты и их обсуждение

#### 3.1 Клинико-лабораторная характеристика пациентов

##### 3.1.1. Клиническая характеристика пациентов

В исследование включен 101 пациент: 44 чувствительных (30 женщин и 14 мужчин) и 57 резистентных (41 женщина, 16 мужчин) к агонистам дофамина. Клиническая характеристика больных представлена в Таблице 6.

**Таблица 6 – Общая характеристика пациентов на момент включения в исследование**

Показатели	Резистентные n = 57	Чувствительные n = 44	P
Пол, мужчины/женщины	16 / 41	14 / 30	0,827**
Возраст на момент обследования, лет			
Медиана Ме [Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> ]	31 [26; 38]	37 [29; 49]	<b>0,014*</b>
Минимум	18	20	
Максимум	84	72	
Возраст в дебюте заболевания, лет			
Медиана Ме [Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> ]	20 [15; 30]	31[23; 46]	<b>&lt; 0,001*</b>
Минимум	12	14	
Максимум	74	70	
Длительность заболевания, лет			
Медиана Ме [Q <sub>1</sub> ;Q <sub>3</sub> ]	8 [3; 13]	3 [1; 8]	<b>&lt; 0,001*</b>
Минимум	1	0,3	
Максимум	28	17	
Нарушение менструального цикла у женщин в дебюте заболевания	39/41 (95%)	25/30 (83%)	0,125**
Снижение либидо, потенции у мужчин в дебюте заболевания	14/16 (88%)	11/14 (79%)	0,642**
Лакторея в дебюте заболевания	25/57 (44%)	16/44 (36%)	0,541**
Головная боль в дебюте заболевания	27/57 (47%)	12/44 (27%)	0,063**
Зрительные нарушения в дебюте заболевания	14/57 (25%)	2/44 (5%)	<b>0,006**</b>
Ожирение или избыточная масса тела на момент обследования	31/57 (54%)	21/44 (48%)	0,551**

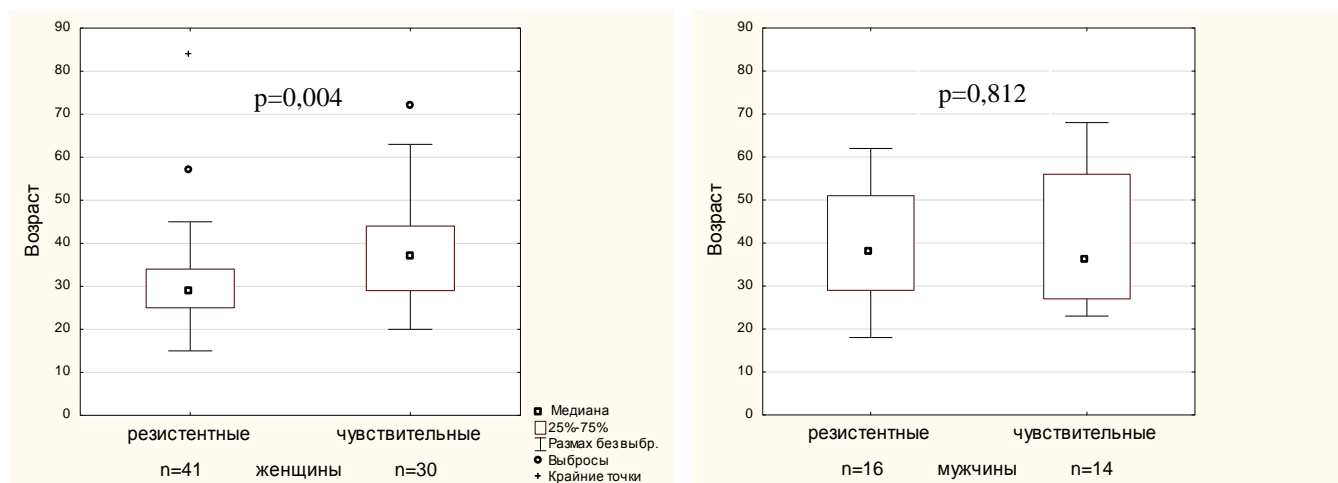
\*– КМУ

\*\*– ТКФ

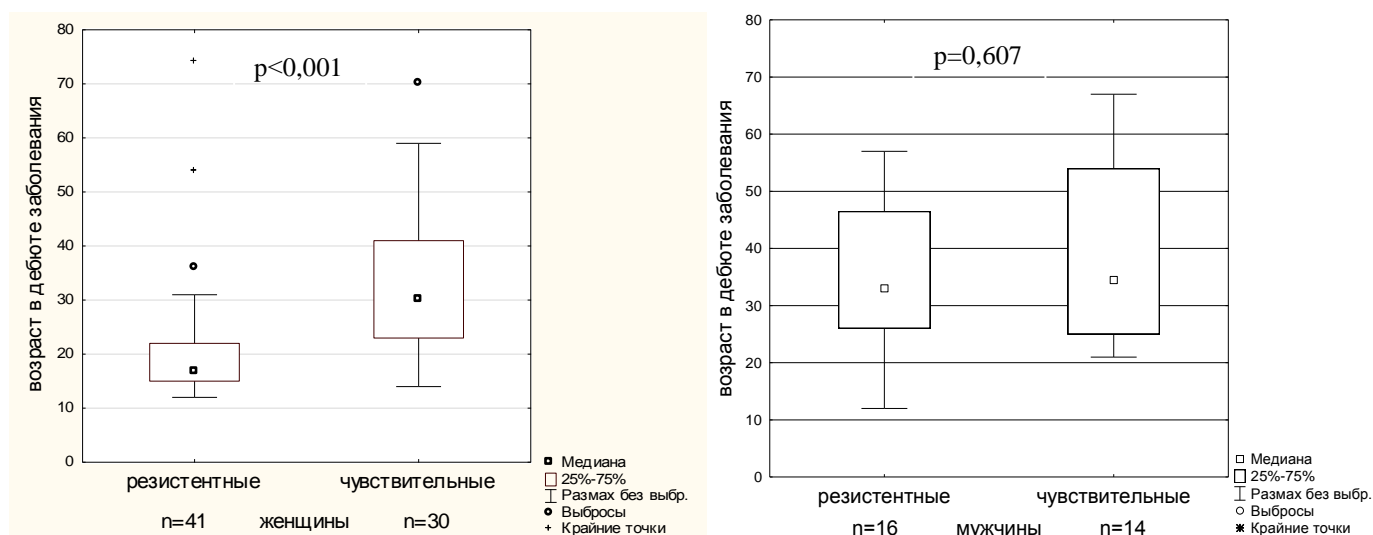
При проведении статистической обработки полученных результатов было показано, что резистентные к лечению агонистами дофамина пациенты моложе

чувствительных (КМУ,  $p = 0,014$ ). Выявление заболевания в группе резистентных пациентов происходило в среднем на 10 лет раньше, чем в группе чувствительных пациентов (КМУ,  $p < 0,001$ ). Длительность заболевания у резистентных пациентов значительно больше (КМУ,  $p < 0,001$ ).

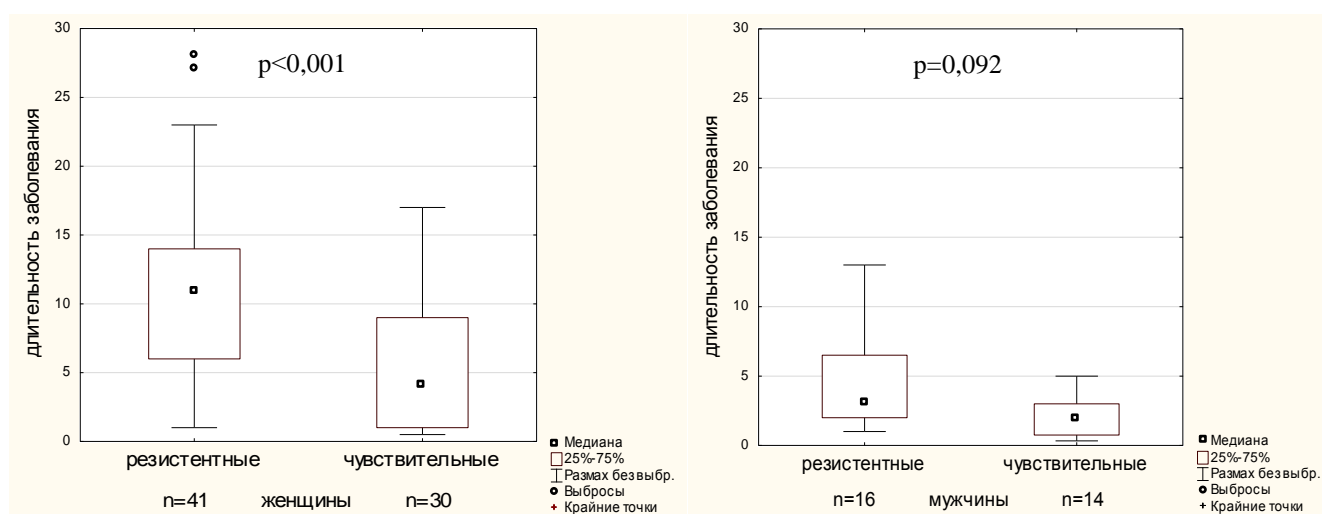
Проведен сравнительный анализ возраста пациентов, возраста в дебюте заболевания и длительности заболевания отдельно среди мужчин и женщин в зависимости от ответа на лечение агонистами дофамина. Женщины с резистентностью к агонистам дофамина моложе женщин, чувствительных к медикаментозному лечению (29 лет [25; 34] и 37 лет [29; 44] соответственно, КМУ,  $p = 0,004$ ), имели более ранний возраст дебюта заболевания (17 лет [15; 22] и 30 лет [23; 41] соответственно, КМУ,  $p < 0,001$ ), и больше длительность заболевания (11 лет [6; 14] и 4 года [1;9] соответственно КМУ,  $p < 0,001$ ) (Рисунок 7). Анализ данных не показал статистически значимых различий возраста, возраста манифестации заболевания, длительности заболевания между чувствительными и резистентными мужчинами.



**Рисунок 7А – Сравнение возраста на момент включение в исследование у мужчин и женщин в группах чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пациентов**



**Рисунок 7Б – Сравнение возраста дебюта заболевания у мужчин и женщин в группах чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пациентов**



**Рисунок 7В – Сравнение длительности заболевания у мужчин и женщин в группах чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пациентов**

В клинической картине заболевания у женщин на первое место выходит нарушение менструальной функции, лакторея, у мужчин половые нарушения, увеличение массы тела, головная боль.

У женщин нарушение менструального цикла является основным проявлением гиперпролактинемии. В дебюте заболевания нарушение менструального цикла характерно для обеих групп пациентов, и выявлено у 64 из 66 (97% (95% ДИ [89%; 99%])) женщин репродуктивного возраста. Лишь у 2 женщин репродуктивного возраста не было нарушения менструального цикла, а

поводом для обращения к врачу была альгоменорея и лакторея соответственно (Таблица 7). Однако среди резистентных женщин чаще диагностирована первичная аменорея (ТКФ,  $p = 0,002$ ).

**Таблица 7 – Менструальная функция у женщин с пролактиномами в дебюте заболевания**

	Резистентные, n = 41	Чувствительные, n = 30	p, ТКФ
Регулярный менструальный цикл	0 (95% ДИ [0; 9%])	2 (7% (95% ДИ [1%; 22%]))	0,175
Первичная аменорея	16 (39% (95% ДИ [24%; 55%]))	2 (7% (95% ДИ [1%; 22%]))	<b>0,002</b>
Вторичная аменорея	15 (37% (95% ДИ [22%; 53%]))	12 (40% (95% ДИ [23%; 59%]))	0,808
Олигоменорея	8 (19% (95% ДИ [9%; 35%]))	11 (36% (95% ДИ [20%; 56%]))	0,174
Постменопауза	2 (5% (95% ДИ [1%; 16%]))	3 (10% (95% ДИ [2%; 27%]))	0,644

Вторым по распространенности клиническим проявлением в дебюте заболевания у женщин в нашем исследовании была лакторея – у 39 больных из 71 (55% (95% ДИ [43%; 67%])). Достоверных различий в частоте лакторей у чувствительных и резистентных к агонистам дофамина женщин не выявлено (53% (95% ДИ [34%; 72%]) и 56% (95% ДИ [40%; 72%]) соответственно, ТКФ,  $p=0,810$ ).

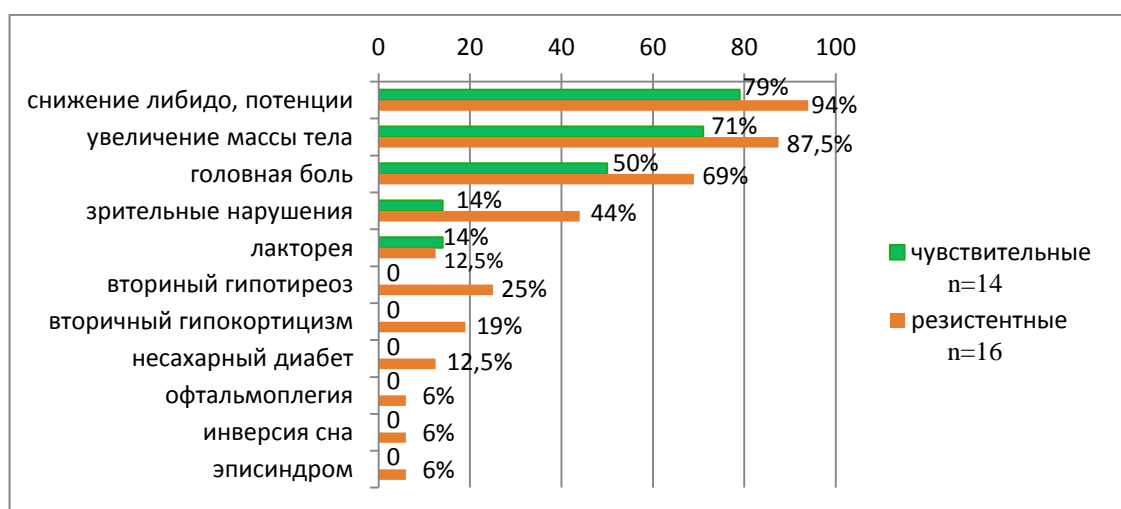
Жалобы на периодически возникающие головные боли предъявляла 21 пациентка (30% (95% ДИ [19%; 42%])). При сравнении женщин зависимости от ответа на лечение агонистами дофамина, статистической разницы найдено не было (39% (95% ДИ [24%; 55%]) у резистентных и 17% (95% ДИ [6%; 35%]) у чувствительных пациентов, ТКФ,  $p = 0,066$ ).

При оценке метаболических нарушений избыточная масса тела ( $\text{ИМТ} > 25 \text{ кг/м}^2$ ) выявлена у 28 из 71 женщин (40% (95% ДИ [28%; 52%])). Не было разницы в группах резистентных и чувствительных женщин (41% (95% ДИ [26%; 58%]) и 37% (95% ДИ [20%; 56%]) соответственно, ТКФ,  $p = 0,809$ ).

Зрительных нарушений среди женщин, чувствительных к агонистам дофамина, в нашем исследовании не выявлено (0% (95% ДИ [0%, 12%])), тогда как в группе резистентных к терапии агонистами дофамина женщин зрительные

нарушения были обнаружены у 7 пациенток (17% (95% ДИ [7%; 32%]), ТКФ,  $p=0,036$ ). Все 7 пациенток имели макроаденому гипофиза с супраселлярным распространением, среди которых встречались битемпоральная гемианопсия – у 6 женщин, косоглазие – у 2 пациенток, птоз – у 2 пациенток, двоение в глазах – у 1 больной. Кроме того, у пациенток с макроаденомами в единичных случаях отмечены следующие проявления масс-эффекта опухоли: затруднение носового дыхания, выраженное головокружение, вторичный гипотиреоз, вторичный гипокортицизм, несахарный диабет.

Основным клиническим проявлением пролактиномы у мужчин были жалобы на снижение либидо и потенции, которые предъявляли 83% (95% ДИ [65; 94%]) мужчин. Наряду с половыми нарушениями в 80% (95% ДИ [61; 92%]) случаев у мужчин диагностировано увеличение массы тела (ИМТ  $> 25$  кг/м<sup>2</sup>). Жалобы на головную боль предъявляли 60% (95% ДИ [41; 77%]) мужчин. Зрительные нарушения диагностированы в 30% (95% ДИ [15; 49%]) случаев среди мужчин. Битемпоральная гемианопсия – у 6 мужчин, двоение в глазах – у 4 пациентов, косоглазие – у 2 пациентов, птоз – у 2 пациентов. Другие эффекты сдавления опухолью окружающих тканей у мужчин были представлены офтальмоплегией, инверсией сна, эписиндромом. Анализ данных не показал различий клинических проявлений у мужчин в группах с резистентными и чувствительными к агонистам дофамина пролактиномами (Рисунок 8).



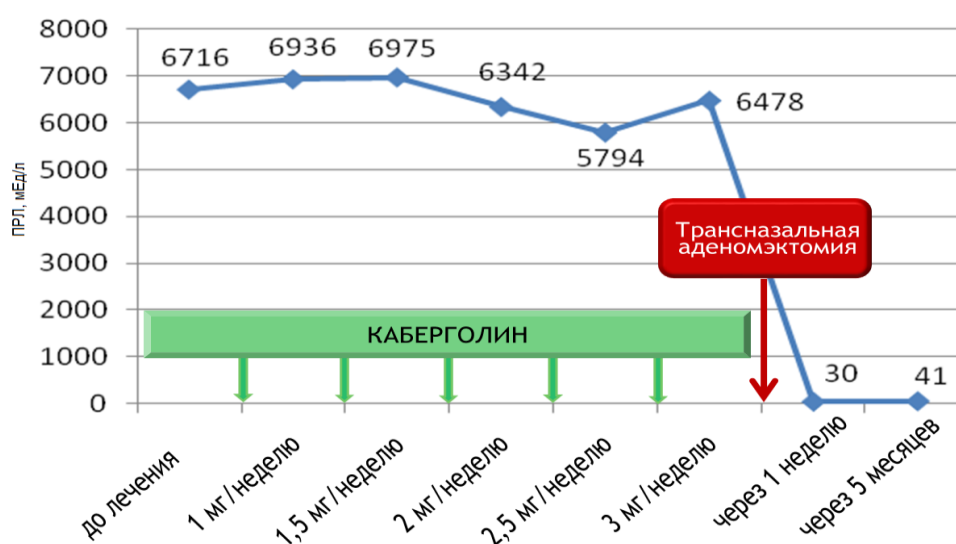
**Рисунок 8 – Основные клинические проявления у мужчин с пролактиномами в дебюте заболевания**

Одним из примеров манифестации заболевания сочетанием наиболее часто встречающихся проявлений у мужчин может служить следующее клиническое наблюдение.

### ***Клиническое наблюдение 1.***

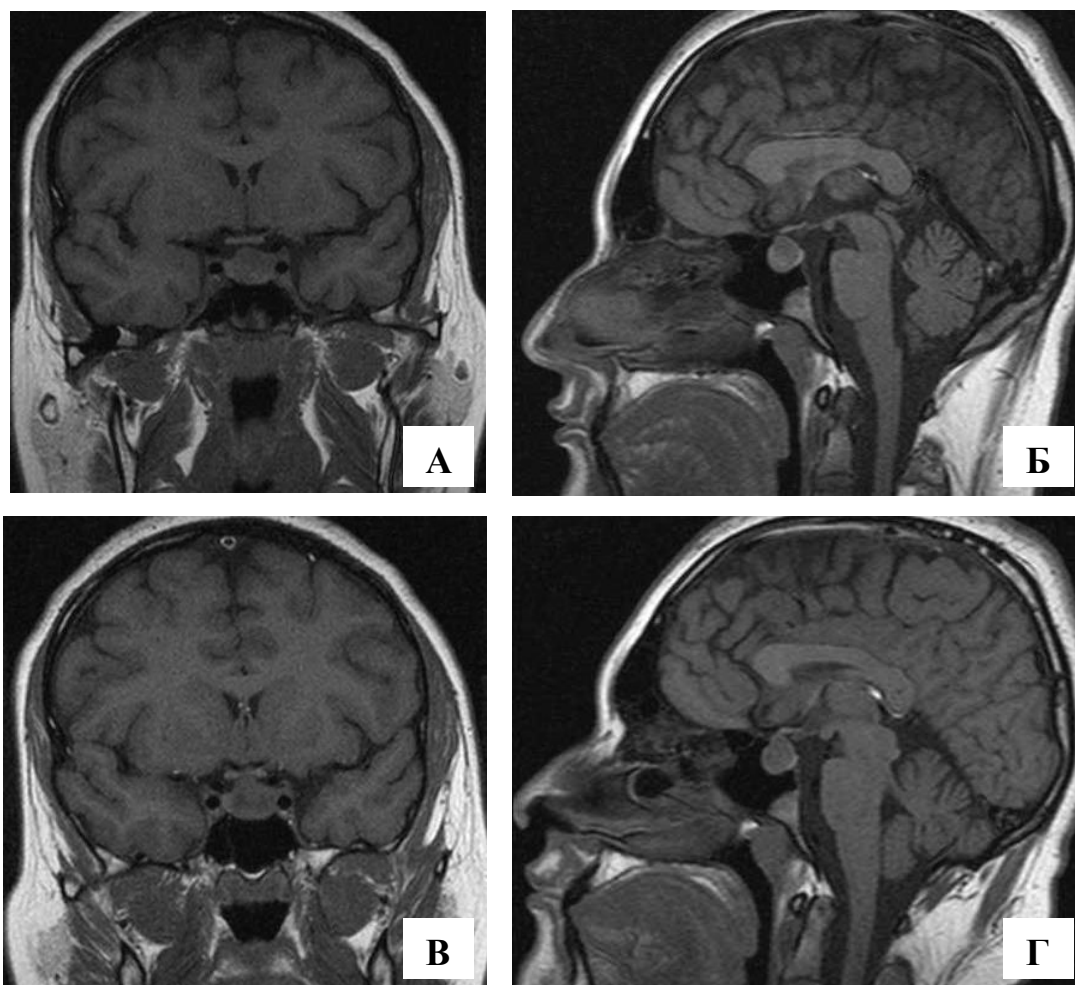
Пациент М., 19 лет, обратился с жалобами на головные боли, избыточную массу тела, снижение либидо.

Из анамнеза известно, что прибавка веса на 15 кг в течение 3 лет. При осмотре выявлена гинекомастия, светлые узкие стрии на животе, обращает внимание невыраженный рост волос на лице, ИМТ =  $39,8 \text{ кг/м}^2$ , что соответствует ожирению II степени. При лабораторном исследовании выявлена гиперпролактинемия 6716 МЕ/л, снижение уровня тестостерона крови до 1,7 нмоль/л, ЛГ (0,2 Ед/л), ФСГ (0,9 Ед/л). По данным МРТ головного мозга выявлено объемное образование неправильной формы, неоднородной структуры, размерами 13 x 18 x 14 мм, распространяющееся супраселлярно, с сужением хиазмальной цистерны, без воздействия на хиазму, тесно прилежащее к медиальной стенке левого кавернозного синуса.



**Рисунок 9 – Уровень ПРЛ крови у пациента М. с пролактиномой, резистентной к агонистам дофамина**

Назначена терапия каберголином, под контролем уровня ПРЛ в крови доза каберголина постепенно была увеличена до 3 мг/нед. Уровень ПРЛ значимо не снизился (Рисунок 9). Через 6 месяцев приема каберголина повторно проведено МРТ головного мозга, выявлена отрицательная динамика в виде увеличения размеров образования до 16 x 21 x 14 мм, что в сочетании с сохраняющейся гиперпролактинемией на фоне приема высоких доз каберголина послужило причиной расценить состояние как резистентность к терапии агонистами дофамина (Рисунок 10). Учитывая супраселлярный характер распространения опухоли, резистентность к медикаментозному лечению, принято решение о проведении нейрохирургического вмешательства.



**Рисунок 10 – Динамика размера аденомы гипофиза у пациента М. А,Б – до приема каберголина; В,Г – через 6 месяцев приема каберголина**

После проведения трансназальной аденомэктомии уровень ПРЛ в сыворотке крови снизился и составил 30 мЕд/л. В послеоперационном периоде у пациента развился центральный несахарный диабет, в связи с чем назначена терапии десмопрессином. Других видов гипофизарной недостаточности в виде гипотиреоза, гипокортицизма после проведения аденомэктомии не отмечено. Пациент отметил снижение аппетита, в течение 2 месяцев после операции масса тела снизилась на 8 кг. При гистологическом исследовании подтвержден диагноз аденомы гипофиза. Иммуногистохимическое окрашивание удаленной ткани выявило иммунопозитивный ответ на ПРЛ, отрицательную окраску на другие тропные гормоны.

При динамическом обследовании в течение 6 месяцев отмечался низкий уровень ПРЛ (41 мЕД/л), произошла нормализация уровней ЛГ (4,4 Ед/л), ФСГ (3,7 Ед/л), однако сохранялся сниженный уровень тестостерона – 8,1 нмоль/л, что могло быть связано с ожирением. При проведении МРТ головного мозга через полгода после оперативного лечения выявлено вторично «пустое» турецкое седло, данных за продолженный рост аденомы гипофиза не получено.

Данный клинический случай демонстрирует манифестацию пролактиномы в виде сочетания половых нарушений, обусловленных развитием гипогонадотропного гипогонадизма, головных болей и метаболических проявлений, эффективность оперативного лечения.

### Обсуждение

В нашей работе проведено комплексное изучение клинических особенностей пациентов с пролактинсекретирующими аденомами гипофиза, резистентных к лечению агонистам дофамина, в сравнении с чувствительными пациентами.

Соотношение мужчин и женщин было сопоставимо в группе чувствительных и резистентных пациентов и составило 1:2,1 и 1:2,6 соответственно, хотя по данным литературы превалирование женщин

значительно больше, у женщин пролактиномы диагностируют до 10 раз чаще, чем у мужчин [4, 11, 35].

При сравнительном анализе мужчин и женщин среди резистентных пациентов выявлено, что женщины в среднем на 8 лет моложе мужчин и имели на 15 лет более ранний дебют заболевания, чем мужчины, а также длительность анамнеза пролактиномы была значимо больше у женщин и составила 10 лет против 4 лет у мужчин. Тогда как в группе чувствительных пациентов таких различий между мужчинами и женщинами в возрасте и длительности заболевания найдено не было. Хотя согласно данным литературы мужчины с пролактиномами старше женщин вне зависимости от ответа на медикаментозное лечение [43, 157]. В исследовании Delgrange E. и соавт. на момент обследования мужчины были старше женщин на 16 лет, медиана возраста мужчин составила 46 лет, женщин – 30 лет ( $p < 0,0001$ ) [53]. Возможно причина полученных в нашей работе результатов в том, что женщины в группе чувствительных пациентов практически с одинаковой частотой имели микро и макроаденомы, 54% и 46% соответственно.

Основные клинические проявления пролактиномы обусловлены гиперпролактинемией и сдавлением опухолью окружающих структур. В нашей работе у женщин самым частым клиническим симптомом было нарушение менструального цикла, которое является объективным признаком, по причине которого женщины обращаются за медицинской помощью. Среди мужчин наиболее частые клинические признаки не столь специфичны и включали снижение либидо и потенции, увеличение массы тела, головную боль и нарушения зрительных функций.

Полученные нами результаты в основном совпадают данными литературы, которые качественно выделяют те же признаки по значимости, однако количественные показатели определены в работах частично. Так, например, в работе Lee Y. И соавт. 61% пациентов с макропролактиномами предъявляли жалобы в половой сфере, которые включали снижение потенции, олигоменорею/аменорею и/или бесплодие, в 14% случаев обнаружена лакторрея, головные боли присутствовали у 27% больных, у 14% пациентов были

обнаружены дефекты поля зрения [94]. По данным Colao A. у женщин с макроаденомами нарушение менструального цикла выявлено в 100% случаев без указания вида нарушения, лакторея в 75%, бесплодие в 24%, головные боли в 69%. У женщин с микроаденомами – в 76% случаев без указания вида нарушения. При микропролактиномах у женщин нарушение менструального цикла отмечено в 76%, лакторея в 43%, бесплодие в 54%, головные боли в 38%. У мужчин с макропролактиномами нарушение либидо встречалось в 83% случаев, лакторея в 22%, головные боли в 38%. У мужчин с микропролактиномами нарушение либидо отмечено в 86%, головные боли в 6% [40]. Некоторый разброс в частоте клинических проявлений в различных исследованиях также связан с тем, что в работах изучали пациентов с гиперпролактинемией различного генеза, в том числе с синдромом макропролактинемии [3, 4, 94]. А в некоторых работах описаны только пациенты с макропролактиномами [49, 135].

Таким образом, различия клинических проявлений у чувствительных и резистентных к терапии агонистам дофамина больных с пролактиномами получены за счет отличий среди женщин. Анализ данных не показал зависимости клинических проявлений от ответа на лечение агонистами дофамина у мужчин.

### 3.1.2 Лабораторная характеристика пациентов

#### Исходный уровень ПРЛ у пациентов с пролактиномами

Первостепенное значение в диагностике пролактином имеет определение уровня ПРЛ в сыворотке крови. В Таблице 8 представлены сведения об исходном уровне ПРЛ крови у обследованных больных по группам.

При анализе лабораторных данных выявлено, что уровень ПРЛ в крови в дебюте заболевания выше у резистентных, чем у чувствительных к агонистам дофамина пациентов (КМУ,  $p = 0,032$ ).

Мы проанализировали эти данные, разделив пациентов в зависимости от пола. Прослеживается тенденция к более высокому уровню ПРЛ у мужчин, чем у женщин как в группе пациентов с чувствительными пролактиномами, так и в группе с резистентными (КМУ,  $p = 0,031$  и  $p = 0,030$  соответственно). В данном анализе применена поправка на множественные сравнения и критически значимый уровень  $p$  составил 0,016.

**Таблица 8 – Уровень ПРЛ крови в дебюте заболевания у пациентов с пролактиномами в зависимости от пола, мЕд/л**

		Медиана	Минимум	Максимум	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Чувствительные	В общем по группе, n=44	3 666,5	1636,0	207 696,0	2 332,0	12 720,0
	Мужчины, n=16	6 500,0	2 332,0	207 696,0	3 428,0	16 060,0
	Женщины, n=30	3 000,0	1 636,0	50 390,0	2 149,0	4 261,0
Резистентные	В общем по группе, n=57	5 033,0	1 028,0	482 448,2	3 513,5	17 546,5
	Мужчины, n=16	10 000,0	3 300,0	482 448,2	4 237,0	121 239,0
	Женщины, n=41	4 500,0	1 028,0	72 636,0	3 480,0	13 380,0

Корреляционный анализ не выявил зависимости между уровнем ПРЛ и возрастом в дебюте заболевания как среди чувствительных ( $r = - 0,01$ ,  $p = 0,895$ ), так и среди резистентных ( $r = - 0,007$ ,  $p = 0,957$ ) пациентов. Также не найдены корреляции между уровнем ПРЛ в дебюте заболевания и длительностью болезни

(для чувствительных пациентов  $r = 0,06$ ,  $p = 0,729$ , для резистентных  $r = -0,12$ ,  $p = 0,374$ ).

При сравнительном анализе уровня ПРЛ крови в дебюте заболевания в группе пациентов, резистентных к агонистам дофамина, не выявлено статистической разницы между уровнями ПРЛ у пациентов с микроаденомами и макроаденомами (КМУ,  $p = 0,161$ ). Тогда как в группе чувствительных пациентов эта разница прослеживается (КМУ,  $p = 0,001$ ). Критически значимый уровень  $p$  составил 0,016 с учетом поправки Бонферони (Таблица 9).

**Таблица 9 – Уровень ПРЛ крови в дебюте заболевания у пациентов с пролактиномами в зависимости от размера аденомы, мЕд/л**

		Медиана	Минимум	Максимум	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Чувствительные	Микроаденомы, n=19	2 500,0	1 636,0	15 000,0	2 035,0	3 710,0
	МАКРОаденомы, n=25	4 628,0	2 100,0	207 696,0	3 000,0	18 875,0
Резистентные	Микроаденомы, n=12	3 770,0	1 028,0	69 000,0	2 063,0	5 112,0
	МАКРОаденомы, n=45	7 358,0	2 000,0	482 448,2	3 568,0	18 300,0

Проведенный статистический анализ данных не показал зависимости исходного уровня ПРЛ от инвазивности аденомы среди резистентных пациентов, медиана и интерквартильный размах составили 4300,0 [2600,0; 11049,0] мЕд/л и 6000,0 [3596,0; 21480,0] мЕд/л в неинвазивных и инвазивных опухолях соответственно, КМУ,  $p = 0,097$ . В группе пациентов, чувствительных к агонистам дофамина, показано статистически значимое различие в уровне исходного ПРЛ крови, медиана и интерквартильный размах составили 2500,0 [2119,5; 3569,0] мЕд/л и 6500,0 [3623,0; 26130,0] мЕд/л при неинвазивных и инвазивных опухолях соответственно, КМУ,  $p < 0,001$  (критически значимый уровень  $p$  составил 0,016 с учетом поправки Бонферони).

### Феномен макропролактинемии

Исследование крови на биоПРЛ проведено 40 пациентам с резистентными пролактиномами. Ни у одного пациента не выявлено феномена макропролактинемии – 0% (95%ДИ [0%; 9%]). Доля макроПРЛ составила 25% [15; 29]. Уровень общего ПРЛ крови составил 2772 [1821; 6716] мЕд/л, уровень биоПРЛ – 2038 [1322; 5486] мЕд/л.

### Оценка гонадотропной функции у пациентов с пролактиномами, резистентными к агонистам дофамина

Как известно, гиперпролактинемия приводит к развитию гипогонадотропного гипогонадизма у женщин и мужчин, являясь одной из наиболее частых причин нарушения овуляции, менструального цикла у женщин, бесплодия, эректильной дисфункции у мужчин.

Мы оценили уровни ЛГ, ФСГ, тестостерона в группе резистентных пациентов на фоне лечения агонистами дофамина. Медиана и интерквартильный размах уровней ЛГ и ФСГ у женщин (n = 32) составили 2,54 мЕд/л [0,89; 5,65] и 4,20 мЕд/л [2,70; 6,10] соответственно. У женщин в возрасте старше 50 лет отмечены низкие уровни гонадотропинов, что не характерно для данной возрастной группы.

Уровень тестостерона ниже референсных значений выявлен у всех обследованных мужчин (n = 11), медиана и интерквартильный интервал уровня тестостерона – 5,6 нмоль/л [3,1; 6,7]. При оценке уровней гонадотропинов у мужчин (n=11) медиана и интерквартильный размах составили 1,68 мЕд/л [1,03; 2,16] и 2,63 мЕд/л [1,00; 4,11] для ЛГ и ФСГ соответственно.

### **Обсуждение**

В проведенном нами исследовании уровень ПРЛ крови значимо выше у резистентных к агонистам дофамина пациентов, чем у чувствительных. Подобные данные получены в исследовании Delgrange E. и соавт., где медиана уровня ПРЛ

крови исходно до применения агонистов дофамина у чувствительных пациентов составил 314 нг/мл, у резистентных – 1203 нг/мл ( $p = 0,0015$ ) [49].

В большинстве опубликованных работ показано, что при пролактиномах вне зависимости от ответа на лечение агонистами дофамина у мужчин ПРЛ выше, чем у женщин, что подтверждается в нашем исследовании [40, 43, 157]. В мультицентровом исследовании Vroonen L. и соавт. медиана уровня ПРЛ крови на момент диагностики заболевания у мужчин составила 1190,0 нг/мл, у женщин – 363,0 нг/мл ( $p < 0,001$ ) [157]. В основном при изучении гендерных различий в исследованиях нет деления на чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пациентов. Мы получили различия в уровне ПРЛ у мужчин и женщин в обеих группах пациентов.

Существует прямая зависимость между значениями ПРЛ крови и выраженностью нарушений менструального цикла [4]. При более низких значениях ПРЛ чаще встречается олигоменорея, при высоких значениях – аменорея. В нашем исследовании резистентные к агонистам дофамина женщины моложе, имеют выше уровень ПРЛ, что в совокупности обуславливает высокий процент нарушения менструального цикла по типу первичной аменореи.

В большинстве работ, посвященных изучению клинических особенностей пролактином, показано, что уровень ПРЛ крови ниже при микроаденомах, чем при макроаденомах [3, 31, 125]. Colao A. и соавт. продемонстрировали, что у женщин с микропролактиномами исходный уровень ПРЛ крови в среднем составил 135,4 нг/мл, у женщин с макропролактиномами – 1132 нг/мл, у мужчин с микропролактиномами ПРЛ крови в начале заболевания в среднем составил 187 нг/мл, с макропролактиномами – 2848 нг/мл [40].

И мы увидели такую связь в группе чувствительных к медикаментозному лечению пациентов, однако среди резистентных пациентов уровень ПРЛ значимо не отличался при микро- и макроаденомах. Также мы не обнаружили зависимости уровня ПРЛ от инвазивного характера роста аденомы в группе резистентных пациентов в отличие от чувствительным к лечению агонистами дофамина пациентов.

Под феноменом макропролактинемии подразумевается преобладание в крови высокомолекулярной формы ПРЛ – макро или big-big-пролактина, молекулярный вес данной фракции составляет более 150 кДа, представляющего собой комплекс IgG с мономерным ПРЛ (монПРЛ или биоПРЛ) молекулярной массой 23 кДа [31]. В настоящее время принято, что при уровне макропролактина в сыворотке крови более 60% от общего количества ПРЛ состояние расценивается как феномен макропролактинемия [9, 102].

Частота макропролактинемии в популяции составляет 0,1-5,4% без значимых гендерных различий. При этом среди пациентов с гиперпролактинемией встречаемость данного феномена составляет около 20% (5-35%) [69, 74], а среди пациентов с опухолевым генезом гиперпролактинемии – 10-15% [5]. В литературе не встречаются данные об исследовании биоПРЛ у пациентов с пролактиномами, резистентными к агонистам дофамина.

В настоящем исследовании среди пациентов с резистентными к лечению агонистами дофамина пролактиномами мы не выявили феномен макропролактинемии ни у одного пациента. Вероятно, резистентность к терапии агонистами дофамина не связана с феноменом макропролактинемии. Поэтому не представляется целесообразным исследование уровня биоПРЛ у пациентов с резистентными к агонистам дофамина пролактиномами на фоне лечения, в том числе в случаях, когда у пациента достигнуто умеренное повышение уровня ПРЛ.

Одним из основных механизмов, приводящих к развитию гипопитуитаризма при гиперпролактинемии, являются блокирование циклического выделения гонадолиберина, что приводит к снижению цикличности выделения ЛГ и ФСГ, уменьшению частоты и амплитуды «пиков» секреции ЛГ, вследствие чего происходит торможение действия гонадотропинов на половые железы. В нашем исследовании на фоне медикаментозного лечения у пациентов, резистентных к агонистам дофамина, отмечено снижение ЛГ и ФСГ в крови. Уровни гонадотропинов не приняты для оценки эффективности лечения агонистами дофамина, поэтому в литературе не встречаются подробные описания их уровней у пациентов с резистентностью к лечению.

Таким образом, у пациентов с пролактиномами, резистентных к лечению агонистами дофамина, уровень ПРЛ крови в дебюте заболевания выше, чем у чувствительных пациентов. У резистентных пациентов исходный уровень ПРЛ одинаково высок при микро- и макроаденомах и не зависит от инвазивного характера роста аденомы. Полученные результаты подтверждают нарушение гонадотропной функции у пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, на фоне приема высоких доз каберголина.

### 3.1.2. Характеристика пролактином по данным МРТ

По данным МРТ исследований мы оценили размер, структуру аденом, направление роста по отношению к турецкому седлу и инвазивность роста опухолей по классификации Hardy J.

Большинство больных (70 наблюдений (69% (95% ДИ [59; 78%]))) имели макроаденомы, то есть опухоли с максимальным диаметром  $>10$  мм, у 31 пациента (31% (95% ДИ [22; 41%])) были выявлены микроаденомы с максимальным диаметром  $\leq 10$  мм. При сравнении характеристик чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пролактином имеется тенденция к более частой диагностике микроаденом среди пациентов первой группы (43% (95% ДИ [28; 59%])) против 21% (95% ДИ [11; 34%])), а макроаденом – и во второй группе (79% (95% ДИ [66; 89%])) против 57% (95% ДИ [41; 72%])), ТКФ,  $p = 0,029$ . Среди макроаденом гипофиза в группе резистентных к агонистам дофамина пациентов в 9 случаях (20% (95% ДИ [10; 35%])) диагностирована гигантская аденома диаметром более 4 см, в группе чувствительных пациентов – в 2 случаях (8% (95% ДИ [1; 26%])), что статистически не отличается, ТКФ,  $p = 0,306$ .

Объем пролактином на момент постановки диагноза не отличался в группах чувствительных и резистентных к агонистам дофамина больных и составил 0,960 мл [0,147;4,060] и 1,388 мл [0,447; 4,940] соответственно, КМУ,  $p = 0,487$ .

**Таблица 10 – Направление роста пролактином**

	Резистентные, n=57	Чувствительные, n=44	p <sup>1</sup> , ТКФ
только эндоселлярный	11 (19% (95% ДИ [10%; 32%]))	22 (50% (95% ДИ [35%;65%]))	<b>0,001</b>
параселлярный	30 (52% (95% ДИ [39%; 66%]))	15 (34% (95% ДИ [20%; 50%]))	0,099
супраселлярный	28 (49% (95% ДИ [36%; 63%]))	5 (11% (95% ДИ [4%; 25%]))	<b>&lt;0,001</b>
инфраселлярный	19 (33% (95% ДИ [21%; 47%]))	12 (27% (95% ДИ [15%; 43%]))	0,515
ретроселлярный	7 (12% (95% ДИ [5%; 24%]))	0 (0% (95% ДИ [0%; 8%]))	0,034
антеселлярный	4 (7% (95% ДИ [2%; 17%]))	0 (0% (95% ДИ [0%; 8%]))	0,137
инвазивный	38 (67% (95% ДИ [53%; 79%]))	16 (36% (95% ДИ [22%; 52%]))	<b>0,003</b>

<sup>1</sup> – критически значимый уровень p составил 0,007 после применения поправки Бонферони

Локализованные эндоселлярные аденомы чаще диагностированы среди чувствительных к лечению агонистами дофамина пациентов (ТКФ,  $p = 0,001$ ).

Опухоли, растущие супраселлярно в направлении перекреста зрительных нервов, статистически значимо чаще встречались у резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов (ТКФ,  $p < 0,001$ ). Это согласуется с данными о диагностике битемпоральной гемианопсии как основного признака хиазмального синдрома, которая встречалась в 21% случаев в группе резистентных пациентов, а у чувствительных ни у одного пациента выявлено не было (ТКФ,  $p = 0,001$ ).

При сравнительном анализе направлений роста не выявлено отличий в частоте параселлярного роста, в том числе с прорастанием в кавернозный синус, инфраселлярного в пазуху основной кости, антеселлярно с проникновением в решетчатый лабиринт, ретроселлярно в сторону задней черепной ямки (Таблица 10).

Инвазивные аденомы гипофиза характеризуются инфильтративным ростом и проникновением в окружающие структуры через твердую мозговую оболочку, кости черепа и кавернозные синусы. Инвазивные аденомы отличаются более агрессивным ростом и более быстрым развитием масс-эффектов опухоли по сравнению с неинвазивными. Признаки инвазивного роста определяются по данным МРТ-исследования, интраоперационно, но достоверные сведения могут быть получены только на основании гистологического анализа. С 1970 года в литературе используется классификация аденом гипофиза по Hardy J., основанная на рентгенологических данных, согласно которой, все опухоли гипофиза подразделяются на неинвазивные и инвазивные. Классификация аденом гипофиза по Hardy J. представлена в Таблице 11.

На основании данных МРТ и с использованием классификации Hardy J. все опухоли в нашем исследовании разделены на 2 группы: инвазивные и неинвазивные аденомы. Неинвазивные аденомы включали локализованные эндоселлярные аденомы, а также опухоли с супраселлярным распространением без зрительных нарушений. Инвазивные опухоли составили новообразования с супраселлярным ростом и зрительными нарушениями или другим направлением

экстраселлярного роста. При статистическом анализе характера роста аденомы показано, что у резистентных пациентов статистически значимо чаще встречался инвазивный рост опухоли (ТКФ,  $p = 0,003$ ).

**Таблица 11 – Классификация аденом гипофиза по Hardy J.**

Степень 1 – эндоселлярная микроаденома ; Степень 2 – эндоселлярная макроаденома, полностью заполняющая полость турецкого седла; Степень 3 – макроаденома с локальной деструкцией дна турецкого седла; Степень 4 – макроаденома с тотальным разрушением турецкого седла.
<u>Подразделение по группам при супраселлярном росте аденомы:</u> А – распространение в хиазмальную цистерну; В – облитерирование кармана III желудочка; С – грубое смещение III желудочка.
<u>Подразделение по группам при параселлярном росте аденомы:</u> D – интракраниальное (интрадуральное); E – латеральное распространение в кавернозный синус.

При статистической обработке данных выявлена корреляция между исходным уровнем ПРЛ и объемом опухоли в дебюте заболевания (см. стр. 55, 61), коэффициент корреляции Спирмена для чувствительных  $r = 0,56$ ,  $p < 0,001$ , для резистентных –  $r = 0,55$ ,  $p < 0,001$ . На фоне лечения агонистами дофамина у резистентных пациентов корреляция сохраняется ( $r = 0,38$ ,  $p = 0,011$ ) (см. стр. 82, 84), тогда как у чувствительных корреляции не прослеживается ( $r = - 0,23$ ,  $p = 0,155$ ) (см. стр. 82, 85).

Проведенный сравнительный анализ не выявил различий размера и характера роста аденомы среди чувствительных к терапии агонистами дофамина пациентов в зависимости от пола.

В группе резистентных пациентов размер опухоли отличался в зависимости от пола пациента (Таблица 12). У всех мужчин выявлена макроаденома гипофиза, тогда как у женщин соотношение микро- и макроаденом было 1:2,4 (ТКФ,  $p = 0,013$ ). При анализе различий характера роста аденомы по полу выявлено, что локализованные эндоселлярные аденомы также чаще диагностированы среди

женщин (ТКФ,  $p = 0,024$ ). У мужчин чаще встречался супраселлярный рост (ТКФ,  $p = 0,038$ ). Обнаружена тенденция к более частой диагностике инвазивного роста у мужчин, чем у женщин (ТКФ,  $p = 0,059$ ).

**Таблица 12 – Сравнительная МРТ-характеристика пролактином у мужчин и женщин, резистентных к агонистам дофамина**

Размер опухоли	Женщины, n=41	Мужчины, n=16	p, ТКФ
Макроаденомы	29 (70% (95% ДИ [54; 84%]))	16 (100% (95% ДИ [79; 100%]))	<b>0,013</b>
- гигантская	4 (10% (95% ДИ [3; 23%]))	5 (31% (95% ДИ [11; 59%]))	0,103
<b>Характер роста опухоли по данным МРТ</b>			
Эндоселлярный локализованный	11 (27% (95% ДИ [14; 43%]))	0 (95% ДИ [0% ; 21%])	<b>0,024</b>
<b>Экстраселлярный</b>			
супраселлярный	17 (41,5% (95% ДИ [26; 58%]))	12 (75% (95% ДИ [47; 93%]))	<b>0,038</b>
параселлярный	20 (49% (95% ДИ [33; 65%]))	10 (62,5% (95% ДИ [35; 47%]))	0,391
инфраселлярный	12 (29% (95% ДИ [16; 46%]))	7 (44% (95% ДИ [20; 70%]))	0,356
антеселлярный	2 (5% (95% ДИ [1; 17%]))	2 (12,5% (95% ДИ [2; 39%]))	0,597
ретроселлярный	3 (7% (95% ДИ [2; 20%]))	4 (25% (95% ДИ [7; 52%]))	0,088
инвазивный	24 (58,5% (95% ДИ [42; 74%]))	14 (87,5% (95% ДИ [63; 98%]))	0,059
рост в кавернозный синус	18 (44% (95% ДИ [28; 60%]))	8 (50% (95% ДИ [25; 75%]))	0,771

### Обсуждение

В нашем исследовании большинство пациентов имели макроаденому гипофиза. Микроаденомы чаще диагностированы у пациентов, чувствительных к агонистам дофамина, макроаденомы чаще – среди резистентных, что согласуется с данными литературы [54, 112]. По мнению Molitch M. и соавт 95% всех пролактином являются микроаденомами, резистентность развивается в 10-15% от всех пролактином [25, 105]. В исследовании Di Sarno A. и соавт. из 56 пациентов с макроаденомами 18% оказались резистентными и не достигли

нормопролактинемии через 24 месяца лечения каберголином, а из 60 с микроаденомами – 10% [54].

Инвазивный характер роста чаще встречается у пациентов с резистентностью к агонистам дофамина, что согласуется с данными ряда исследований [54, 112]. В работе Delgrange E. и соавт. показано, что инвазия в кавернозные синусы связана с более чем в 10 раз повышенным риском резистентности к лечению. По нашим данным параселлярный рост аденомы с прорастанием в кавернозный синус выявлен одинаково часто в группах чувствительных и резистентных пациентов, а отличия найдены в частоте выявления супраселлярного роста и инвазивности в целом. Отличия в зависимости от инвазивного роста аденомы расходятся с нашими данными, возможно, из-за того, что в представленном исследовании из 122 пациентов только 7 пациентов были полностью резистентными, остальные пациенты были частично резистентны к агонистам дофамина [49].

Согласно данным мировой литературы, микроаденомы чаще диагностируются у женщин, макроаденомы – у мужчин. По мнению некоторых исследователей это объясняется тем, что нарушение менструального цикла заставляет женщин обращаться к врачу, а у мужчин снижение либидо и половой активности недооценивается большинством пациентов [11, 31, 46]. В нашем исследовании в группе резистентных к агонистам дофамина больных подтверждается эта закономерность, а в группе чувствительных нет. Вероятно, это связано с тем, что мужчины и женщины, чувствительные к терапии агонистами дофамина, в нашей выборке были сопоставимы по возрасту и длительности заболевания.

Хотя нами не выявлено различий в уровне ПРЛ между пациентами с микро- и макроаденомами, резистентными к агонистам дофамина, показана корреляция между уровнем ПРЛ сыворотки крови и объемом аденомы среди резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов, что совпадает с результатами исследований среди мужчин с пролактиномами [3] и среди пациентов с макропролактиномами [4].

Таким образом, для резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов с пролактиномами характерно наличие макроаденомы гипофиза, инвазивный рост аденомы, чаще супраселлярное распространение опухоли, наличие корреляции между объемом аденомы и уровнем ПРЛ в крови как в дебюте заболевания, так и на фоне лечения агонистами дофамина.

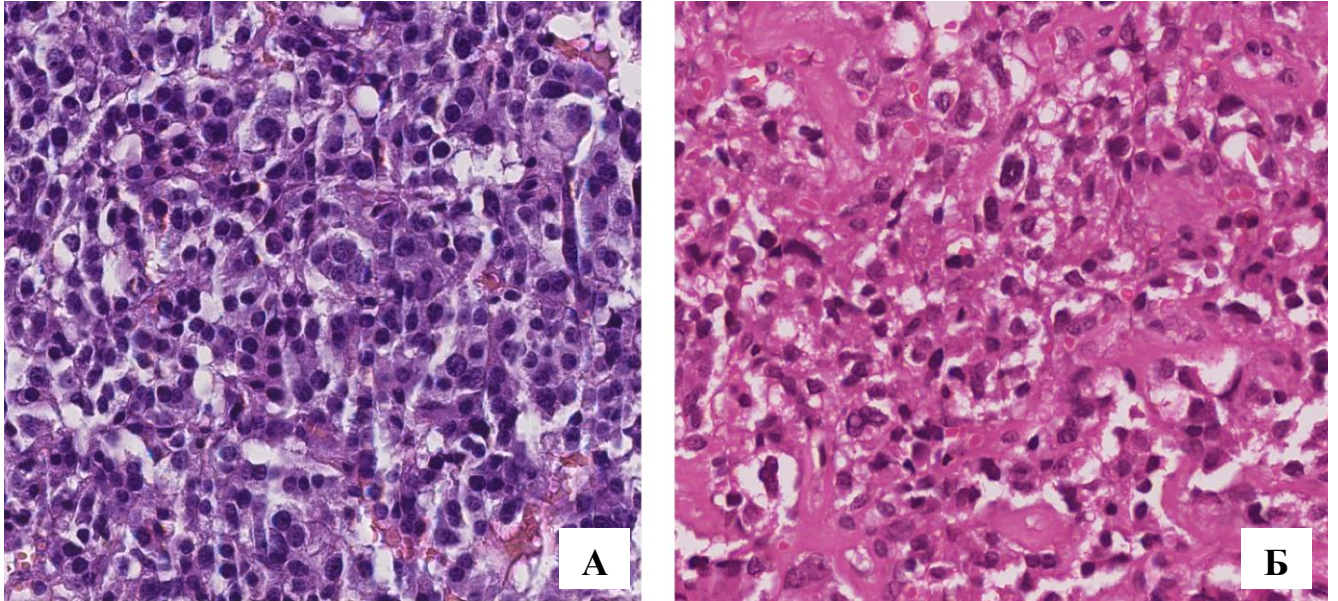
### **3.1.4. Морфологическая характеристика пролактином, резистентных к агонистам дофамина**

Диагноз аденомы гипофиза в 32 случаях подтвержден на основании гистологического исследования. Определены тинкториальные свойства опухолей, митозы, полиморфизм ядер клеток, наличие очагов некроза, фиброза и отека стромы, а также псаммомных телец. Размеры аденомы не были установлены при макроскопическом исследовании, так как операционный материал поступал во фрагментированном виде. Инвазивные свойства опухолей по данным гистологического исследования также не оценивались, в связи с тем, что окружающие ткани не были удалены.

По отношению к красителям среди пролактином преобладали базофильные аденомы – 16 случаев (50%), эозинофильные опухоли встречались в 10 наблюдениях (31%), хромофобные аденомы – в 4 случаях (12,5%) и смешанно-клеточные (базофильно-хромофобные) опухоли – у 2 больных (6,5%) (Рисунок 11).

В основном встречались аденомы солидного строения (22%), солидно-трабекулярного строения – 9% случаев, трабекулярного – в 6% случаев, альвеолярного – в 3 % случаев. Однако в 60% случаях оценить строение опухоли было невозможно, в виду того, что материал представлен фрагментарно или из-за выраженных дистрофических изменений.

Очаги некроза и участки фиброза выявлены в 3 (9%) и 4 (12%) аденомах соответственно, отек стромы наблюдался в 4 случаях (12%). Единичные митозы были найдены в 7 опухолях (22%), полиморфизм ядер – в 8 (25%). Псаммомные тельца были обнаружены в опухолях 5 больных (16%).



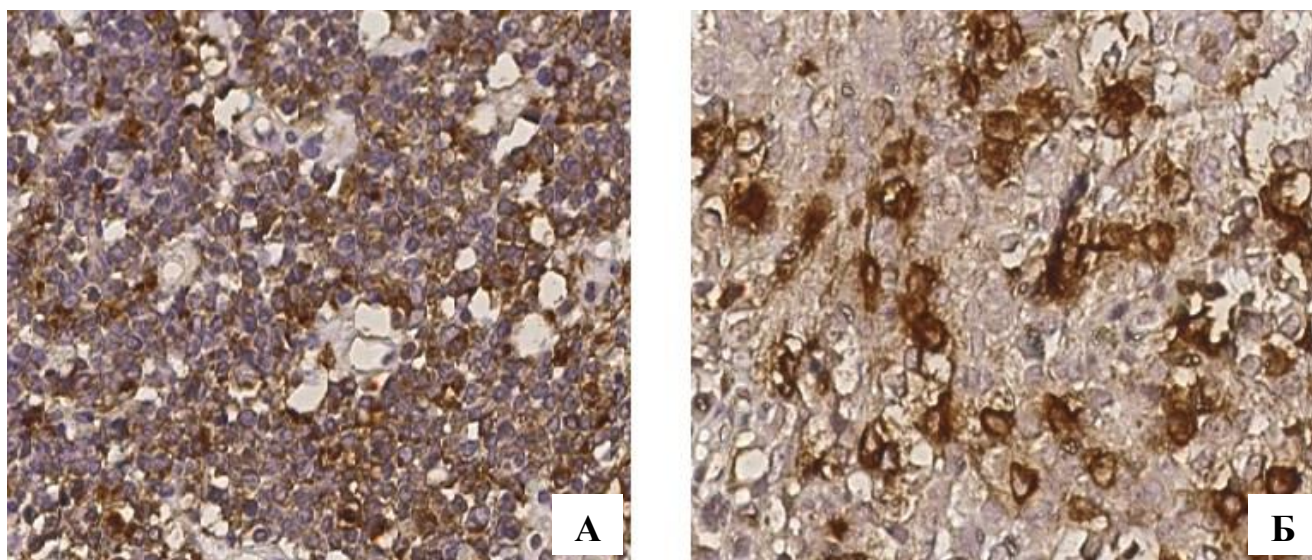
**Рисунок 11 – Гистологическая характеристика пролактином (окраска гематоксилин-эозином)**

**А.** Фрагмент базофильно-клеточной пролактиномы, х400. **Б.** Фрагмент эозинофильно-клеточной пролактиномы, х400.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проведено в 20 случаях. Среди причин исключения материала для ИГХ исследования были выраженный фиброз, некроз, дистрофические изменения, очень маленькое количество ткани аденомы в материале.

При исследовании экспрессии пролактина у 19 пациентов подтвержден диагноз пролактиномы (95% (95% ДИ [75; 99%])) (Рисунок 12).

Сочетанная иммуноэкспрессия ПРЛ и СТГ выявлена у 3 пациентов (15% (95% ДИ [3; 38%])), хотя клинически у этих больных подозрений на акромегалию не возникало, и уровень СТГ в крови был 0,1 – 0,3 нг/мл. Ни в одном случае не было выявлено экспрессии ТТГ, АКТГ, ЛГ, ФСГ.



**Рисунок 12 – Иммуноэкспрессия тропных гормонов**

**А.** Иммуногистохимическая реакция с антителами к ПРЛ в опухолевых клетках, х400. **Б.** Иммуногистохимическая реакция с антителами к СТГ в опухолевых клетках, х400.

В рамках иммуногистохимического анализа нами исследована иммуноэкспрессия дофаминовых рецепторов 2 типа (Д<sub>2</sub>-рецепторы), соматостатиновых рецепторов 2 и 5 типов (ССР2, ССР5), эстрогеновых рецепторов (ЭР $\alpha$ ) (Рисунок 13).

**Таблица 13 – Иммуноэкспрессия рецепторов в клетках резистентных пролактином**

Тип рецепторов	Частота выявления (n=20)
Д <sub>2</sub> - рецепторы	9 (45% (95% ДИ [23%; 68%]))
ССР2	2 (10% (95% ДИ [1%; 32%]))
ССР5	2 (10% (95% ДИ [1%; 32%]))
ЭР $\alpha$	6 (30% (95% ДИ [12%; 54%]))

Из таблицы 13 следует, что статистической разницы в частоте выявления Д<sub>2</sub>-рецепторов, ССР2, ССР5 и ЭР $\alpha$  нет, так как доверительные интервалы пересекаются.

Для анализа коэкспрессии рецепторов в исследуемых опухолях представлена таблица (Таблица 14), из которой следует, что в нашем исследовании встречались опухоли с отсутствием экспрессии рецепторов, с экспрессией одного вида или

различные сочетания двух видов рецепторов. Одновременная иммуноэкспрессия трех и более видов рецепторов нами не выявлена.

**Таблица 14 – Иммуноэкспрессия одного и более типов рецепторов в пролактиномах**

Типы рецепторов и сочетания	Частота выявления (n=20)
только Д <sub>2</sub> -рецепторы	5 (25% (95% ДИ [9%; 49%]))
только ССР2	2 (10% (95% ДИ [1%; 32%]))
только ЭР $\alpha$	2 (10% (95% ДИ [1%; 32%]))
Д <sub>2</sub> -рецепторы + ССР5	1 (5% (95% ДИ [0,1%; 25%]))
Д <sub>2</sub> -рецепторы + ЭР $\alpha$	3 (15% (95% ДИ [3%; 38%]))
ССР 5 + ЭР $\alpha$	1 (5% (95% ДИ [0,1%; 25%]))
отсутствие рецепторов	6 (30% (95% ДИ [12%; 54%]))

Положительная иммунореакция Д<sub>2</sub>-рецепторов выявлена в 9 случаях (45% (95% ДИ [23; 68%])) (Таблица 13). ИГХ окрашивание наблюдалось преимущественно в цитоплазме опухолевых клеток в виде гранул (Рисунок 13).

При сравнительном анализе данных не было выявлено различий между группами пациентов с положительной и отрицательной иммунореакцией на Д<sub>2</sub>-рецепторы по таким клиническим характеристикам как пол, возраст больных, длительность заболевания, объем опухоли и характер ее распространения, уровень ПРЛ крови, вид резистентности, доза каберголина (Таблица 15).

Среди больных с отрицательной ИГХ реакцией на Д<sub>2</sub>-рецепторы у 3 пациентов (27%) диагностирована гигантская аденома, у 1 пациента (9%) – микроаденома, тогда как среди больных с положительной ИГХ реакцией все больные были с макроаденомами диаметром до 40мм.

Кроме того, в группе больных с отрицательной иммунореакцией на Д<sub>2</sub>-рецепторы после оперативного лечения 4 пациентам проведена лучевая терапия, тогда как в группе с положительной ИГХ окраской на Д<sub>2</sub>-рецепторы ни одному пациенту лучевая терапия проведена не была.

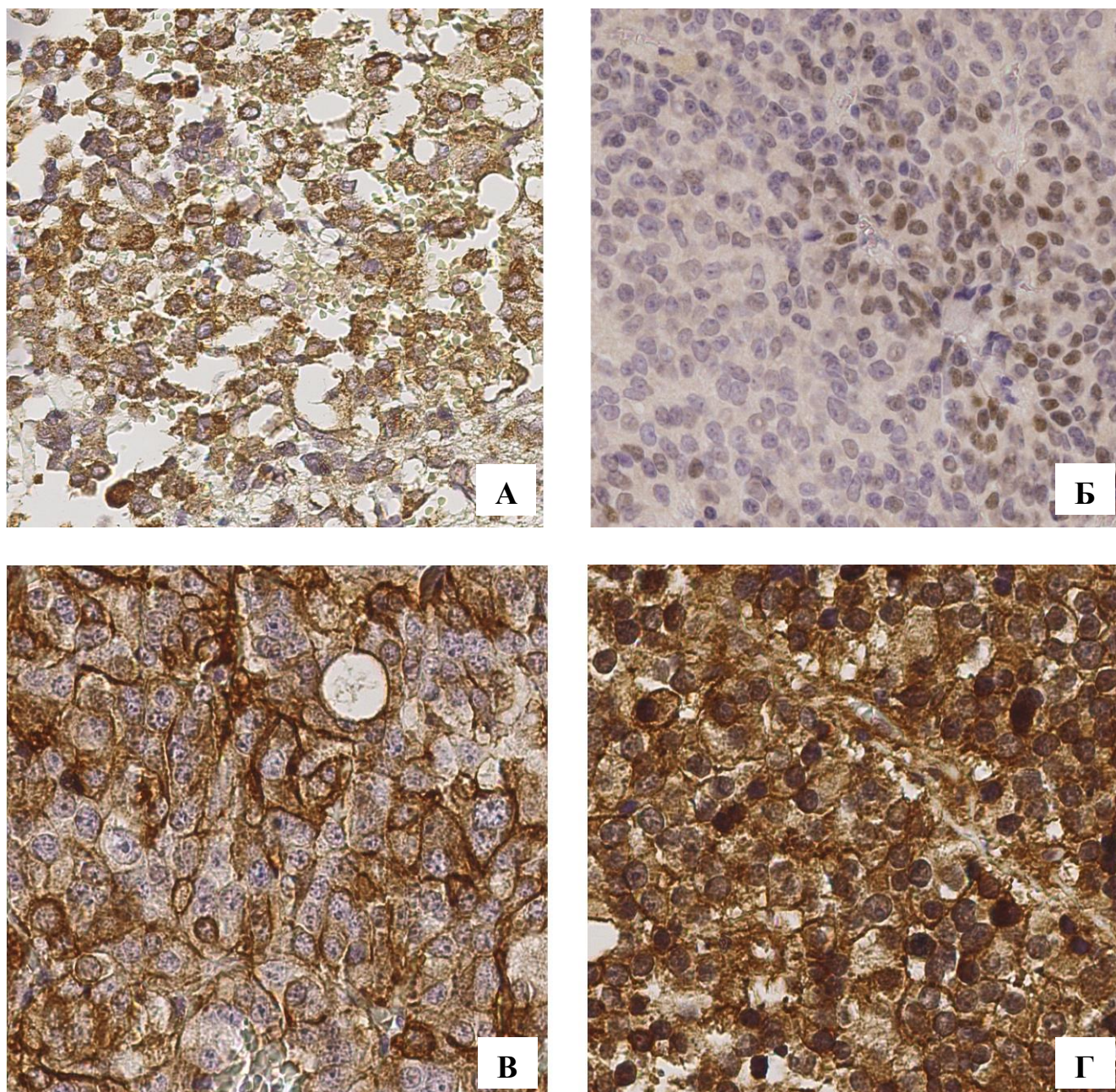
**Таблица 15 – Зависимость иммуноэкспрессии D<sub>2</sub>-рецепторов от клинико-морфологических свойств пролактином, резистентных к агонистам дофамина**

Показатели	Наличие D <sub>2</sub> -рецепторов (n=9)	Отсутствие D <sub>2</sub> -рецепторов (n=11)	p
Пол м/ж	3/6	3/8	1,000 **
Возраст, лет	23 [19; 31]	32 [22; 38]	0,494 *
Длительность заболевания, лет	4 [2; 7]	8 [3; 14]	0,138 *
Объем опухоли, мл	3,2 [1,0; 4,9]	3,9 [0,7; 10,1]	0,936 *
Супраселлярный рост	8 (88%)	6 (54%)	0,156 **
Распространение в кавернозные синусы	2 (22%)	6 (54%)	0,197 **
Уровень ПРЛ в крови, мЕд/л	8586 [4113; 38670]	15380 [1936; 53127]	0,820 *
Частичная резистентность	1 (11%)	1 (9%)	1,000 **
Каберголин, мг/нед	3 [3; 4,5]	3,5 [3; 5]	0,621 *
Проведение лучевой терапии	0	4 (36%)	0,094 **
Иммуноэкспрессия СТГ	0	3 (27%)	0,218 **
Иммуноэкспрессия ССР2	0	2 (18%)	0,479 **
Иммуноэкспрессия ССР5	1 (11%)	1 (9%)	1,000 **
Иммуноэкспрессия ЭРа	3 (33%)	3 (27%)	1,000 **
Полиморфизм ядер	1 (11%)	4 (36%)	0,319 **
Наличие псаммомных телец	4 (44%)	0	<b>0,026 **</b>

\*– КМУ

\*\*– ТКФ

Мы получили статистически значимое различие между группами с разным ИГХ окрашиванием на D<sub>2</sub>-рецепторы по наличию псаммомных телец, которые представляют собой концентрические отложения кальция (ТКФ, p = 0,026). В группе с положительной окраской на D<sub>2</sub>-рецепторы псаммомные тельца выявлены в 44% случаев, тогда как в группе с отрицательной окраской не выявлено ни у одного пациента.



**Рисунок 13 – Иммуноэкспрессия дофаминовых, эстрогеновых и соматостатиновых рецепторов в резистентных к лечению агонистами дофамина пролактиномах**

А. Иммуногистохимическая реакция с антителами к DR2 в опухолевых клетках, х400.

Б. Иммуногистохимическая реакция с антителами к ЭР $\alpha$  в опухолевых клетках, х400.

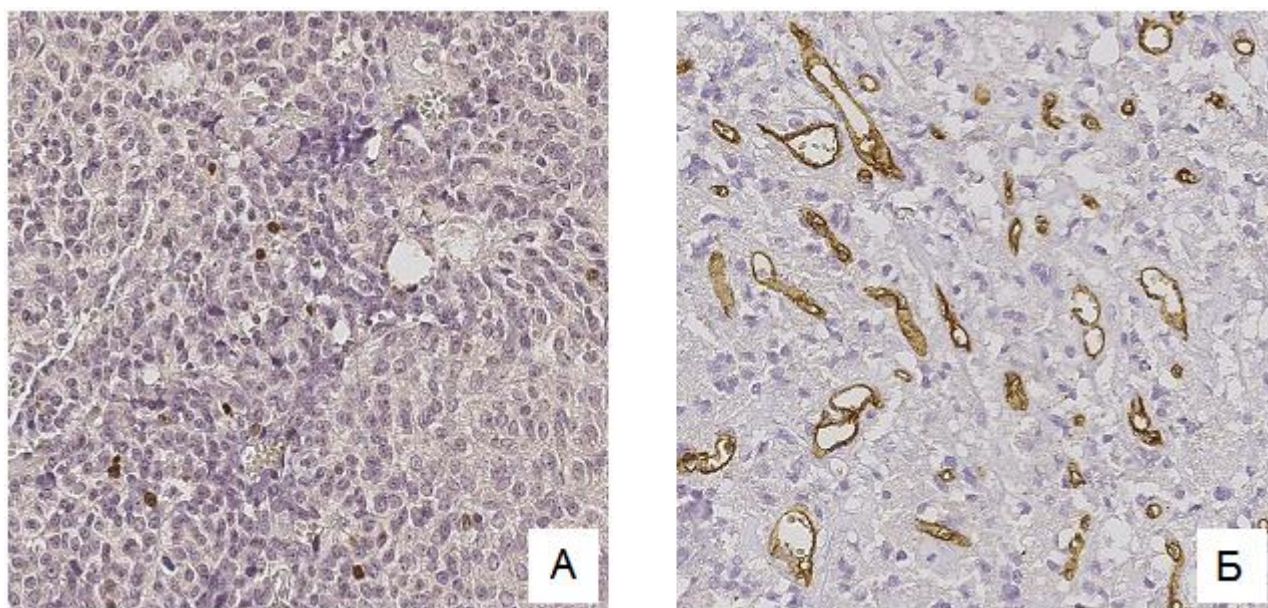
В. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СР2 в опухолевых клетках, х400.

Г. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СР5 в опухолевых клетках, х400.

Положительная экспрессия ССР2 типа выявлена у 2 пациентов (10% (95% ДИ [1; 32%])), ССР5 – также у 2 пациентов (10%) (Рисунок 13). Ни у одного пациента не было сочетанной иммуноэкспрессии ССР2 и ССР5 типа. У 6 пациентов (30% (95% ДИ 12; 54%)) выявлена экспрессия ЭР $\alpha$  (Таблица 13). У 6

(30%) пациентов не выявлено экспрессии ни одного из исследованных клеточных рецепторов (Таблица 14). При статистическом анализе данных нами не найдено различий между аденомами с положительной и отрицательной иммунореакцией на ЭРа по основным клиническим и морфологическим характеристикам.

Для оценки пролиферативной активности пролактином мы исследовали иммуноэкспрессию маркера опухолевой пролиферации Ki-67, для оценки ангиогенеза – иммуноэкспрессию CD34 в удаленных аденомах (Рисунок 14).



**Рисунок 14 – Иммуноэкспрессия Ki-67, CD34 в пролактиномах**

**А.** Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67 в ядрах опухолевых клеток, х400. **Б.** Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD34 в эндотелии сосудов опухоли, х400.

В нашем исследовании индекс пролиферации Ki-67 был низким, в 65% случаев (13/20) составил 0. В остальных 35% случаев (7/20) он варьировал в пределах от 1 до 8 % (Me 0 [0; 1]). Ki-67 менее 3% диагностирован у 17 пациентов (85% (95% ДИ [62; 97])).

Иммуноэкспрессия Ki-67 не зависела от пола, возраста больных, длительности заболевания, объема аденомы и инвазивного роста опухоли. При этом показатель Ki-67 был выше у пациентов аденомами с супраселлярным ростом (0,5% [0; 1,5] при наличии супраселлярного роста и 0% [0; 0] при его

отсутствии, КМУ,  $p = 0,047$ ). А также значение Ki-67 выше у больных с опухолями при наличии ретроселлярного роста по сравнению с его отсутствием (4,75% [1,5; 8] и 0% [0; 1] соответственно, КМУ,  $p = 0,022$ ).

Найдена корреляция между уровнем Ki-67 и ПРЛ в крови в дебюте заболевания – умеренной силы положительная связь (коэффициент Спирмена  $r = 0,59$ ,  $p = 0,008$ ).

Мы не обнаружили связи между иммуноэкспрессией Ki-67 и такими гистологическими характеристиками как наличие митозов, полиморфизма ядер, CD34.

Для оценки ангиогенеза опухолей мы использовали антитела к маркеру сосудистого эндотелия CD34. Медиана количества сосудов, измеренного с помощью CD34, составила 37,  $Q_1 - 25$ ,  $Q_3 - 85$ , минимальное значение – 18, максимальное – 198.

Нами выявлена статистическая разница в количестве сосудов в опухолях в зависимости от наличия параселлярного распространения аденомы. При сравнении аденом в группе больных с параселлярным распространением аденомы CD34 составил 85 [44; 97], в группе с отсутствием роста параселлярно – 32 [22; 38], ТКФ,  $p = 0,001$ . Также найдена зависимость CD34 от инвазии в кавернозные синусы (ТКФ,  $p = 0,04$ ).

В нашем исследовании не было выявлено связи между иммуноэкспрессией CD 34 и полом, возрастом больных, длительностью заболевания, размером опухоли, предоперационным уровнем ПРЛ, наличием митозов, полиморфизма ядер клеток аденомы, уровнем Ki-67.

### Обсуждение

По результатам ИГХ исследования иммуноэкспрессия ПРЛ выявлена в 19 из 20 случаев (95%). В одном случае не выявлено иммуноэкспрессии ни одного тропного гормона. Необходимо отметить, что клинически диагноз пролактиномы у пациентки Н. с неустановленной экспрессией ПРЛ не вызывает сомнения.

Уровень ПРЛ в дебюте заболевания составил 3500 мЕд/л, тогда как для неактивных аденом гипофиза со сдавлением ножки гипофиза характерна умеренная гиперпролактинемия примерно до 1500 мЕд/л [33, 87]. В исследовании Липатенковой А.К. из 50 пациентов с неактивной аденомой гипофиза гиперпролактинемия выявлена в 46% случаев, максимальный уровень ПРЛ составил 1044 мЕд/л [8]. Назначение минимальных доз агонистов дофамина при неактивных аденомах гипофиза приводит к снижению уровня ПРЛ до референсных значений и ниже. У пациентки Н. нормализация уровня ПРЛ крови достигнута на фоне приема каберголина в дозе 3 мг / неделю, что не характерно для неактивных аденом гипофиза. При динамическом проведении МРТ головного мозга через 12 месяцев медикаментозного лечения отмечена отрицательная динамика размеров аденомы (размеры аденомы - 20х23х12 мм и 22х23х16 мм соответственно), что послужило поводом для проведения оперативного лечения. По совокупности клинических данных пациентка Н. была отнесена нами в группу частично резистентных к агонистам дофамина пациентов. Возможно, отсутствие иммунореакции на ПРЛ связано с проведением лечения на дооперационном этапе, и опухоль потеряла способность экспрессировать ПРЛ.

В нашем исследовании выявлена иммуноэкспрессия СТГ у 3 пациентов (15%). Вероятно, это объясняется общей клеткой предшественником, из которой в присутствии эстрогена происходит формирование лактотрофа, а в отсутствии эстрогена по умолчанию развивается соматотрофная клетка. В литературе также встречаются подобные данные ко-экспрессии ПРЛ и СТГ без клинико-лабораторных проявлений акромегалии [135].

Положительная иммунореакция D<sub>2</sub>-рецепторов выявлена в 9 пролактиномах, резистентных к агонистам дофамина (45%). Не выявлено клинических отличий у пациентов с положительной и отрицательной иммуноэкспрессией D<sub>2</sub>-рецепторов.

Полученные нами результаты согласуются с исследованием Shimazu S. и соавт., в котором применена балльная оценка экспрессии D<sub>2</sub>-рецепторов, где 0 – отсутствие окрашивания, 1 – цитоплазматическое окрашивание, 2 – мембранное

окрашивание менее 50% клеток, 3 – мембранное окрашивание более 50% клеток. Показано, что иммуноэкспрессия D<sub>2</sub>-рецепторов варьировала от 0 до 3 баллов среди пролактином и статистически не отличалась между пациентами, чувствительными и резистентными к лечению агонистами дофамина. При этом в большинстве случаев иммунореакция наблюдалась в цитоплазме клеток аденомы [132]. В том же исследовании авторы провели количественную оценку уровня мРНК D<sub>2</sub>-рецептора, и показали несоответствие между результатами двух методов. При определении мРНК выявлено, что у резистентных пациентов ее уровень ниже, чем у чувствительных.

В ряде других современных исследований по изучению количества D<sub>2</sub>-рецепторов также проведено параллельно определение экспрессии D<sub>2</sub>-рецептора путем определения мРНК и методом ИГХ в аденомах. В одном исследовании показано, что лечение бромокриптином сопровождалось увеличением мРНК D<sub>2</sub>-рецептора при отсутствии иммунореакции D<sub>2</sub>-рецептора при ИГХ, что указывает на стабильность мРНК [137]. Подобные данные были получены при описании клинического наблюдения больного со злокачественной пролактиномой, резистентного к агонистам дофамина, с внутрикраниальными и экстракраниальными метастазами. Присутствие D<sub>2</sub>-рецептора изучали на уровне мРНК и белка методом ИГХ. мРНК D<sub>2</sub>-рецептора была обнаружена в первичных опухолевых и метастатических тканях, тогда как белок D<sub>2</sub>-рецептора присутствовал только в хирургически удаленной первичной опухоли гипофиза, но не в метастазах, полученных при аутопсии. Авторы показали отсутствие белка D<sub>2</sub>-рецептора при ИГХ исследовании, несмотря на сохранение транскрипта на поздней стадии злокачественной пролактиномы [163].

Результаты этих работ позволяют высказать гипотезу о том, что механизмы посттранскрипции могут способствовать развитию резистентности к агонистам дофамина.

В нашем исследовании у 4 пациентов при гистологическом исследовании выявлены наличие кальцинатов в виде псаммомных телец, которые представляют собой концентрические отложения кальция.

Известно, что кальцинаты встречаются в аденомах гипофиза. В исследованиях больших серий аденом гипофиза было показано, что наиболее часто отложения кальция встречаются при пролактиномах [142].

При исследовании 312 удаленных аденом гипофиза в 9% случаев при микроскопическом исследовании были обнаружены внутриопухолевые кальцинаты. При световой микроскопии показано, что отложения кальция были в виде бесструктурных масс и псаммомных телец, которые представляют собой концентрические слоистые структуры. При проведении электронной микроскопии отложения кальция отмечались в цитоплазме клеток аденомы и внеклеточном пространстве [79]. В другой работе при анализе 755 удаленных аденом гипофиза в 51 (6,75%) случае при микроскопическом исследовании были обнаружены внутриопухолевые кальцинаты, из них 38 случаев представлены пролактиномами. Отложения кальция в ткани опухоли говорит о дистрофических изменениях [123].

В нашем исследовании обнаружение псаммомных телец ассоциировано с наличием  $D_2$ -рецепторов. Возможно, появление псаммомных телец происходит под влиянием предшествующей терапии каберголином. У пациентов с отрицательной иммуноэкспрессией  $D_2$ -рецепторов отсутствует точка приложения действия каберголина и поэтому отсутствуют псаммомные тельца.

Эстрогены могут играть роль в развитии и прогрессировании новообразований гипофиза, стимулируя секрецию ПРЛ и митогенные процессы в лактотрофах, что было показано в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [71]. Пролиферативный эффект эстрогенов на лактотрофы подтверждается развитием гиперплазии гипофиза во время беременности у женщин, а также описанием нескольких случаев развития аденомы гипофиза у мужчин-транссексуалов, получавших высокие дозы эстрогенов [89, 131].

Эстрогеновые рецепторы обнаружены во многих тканях, в том числе в гипофизе. В нашем исследовании среди пациентов, резистентных к агонистам дофамина, ЭР $\alpha$  согласно результатам ИГХ обнаружены в 30% случаев, что несколько ниже чем в исследовании Kaptain G.J. и соавт., по данным которого в 72% случаев у пациентов с пролактиномами обнаружено наличие эстрогеновых

рецепторов, независимо от возраста, менструальной функции, размера и инвазивности опухоли, степени ответа на лечение агонистами дофамина, предоперационного уровня ПРЛ крови. При этом количество рецепторов было значительно ниже в рецидивирующих опухолях [86]. В описании работы не указано, какой тип рецепторов исследовали авторы.

В тканях опухолей гипофиза выявлены различия в экспрессии разных типов эстрогеновых рецепторов –  $\alpha$  и  $\beta$ . При исследовании экспрессии мРНК эстрогеновых рецепторов Shupnik M.A. и соавт. установили, что экспрессия ЭР $\alpha$  у людей чаще выявляется в пролактиномах, большинстве гонадотропином, неактивных аденомах гипофиза [133]. Аналогичные результаты получили другие исследователи, использовавшие различные методы определения рецепторов, в том числе метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, иммуногистохимический метод. Также продемонстрирована преимущественная экспрессия ЭР $\alpha$  в клетках лактотрофов [32, 65, 119, 168].

Manoranjan B. и соавт. в 2010 г. при проведении иммуногистохимического исследования 75 пациентов с аденомами гипофиза выявили одинаковую ядерную экспрессию обоих подтипов эстрогеновых рецепторов ( $\alpha$  и  $\beta$ ) в пролактиномах, гонадотропиномах, соматотропиномах и неактивных аденомах гипофиза. Значительное преобладание повышенной экспрессии ЭР $\alpha$  наблюдалось в макроаденомах по сравнению с микроаденомами и в неинвазивных аденомах по сравнению с инвазивными опухолями [101]. Мы не обнаружили связи между иммуноэкспрессией ЭР $\alpha$  и инвазивным ростом аденомы. Анализ различий иммуноэкспрессии у пациентов с микро и макроаденомами не проводился, так как в 95% случаев пациенты, которым выполнено ИГХ исследование, имели макроаденомы.

Таким образом, эстрогеновые рецепторы в ряде случаев могут служить в качестве терапевтической мишени ингибирования секреции ПРЛ и роста аденомы.

Исследование ССР в тканях опухолей имеет клиническое значение, учитывая, что ответ на лечение аналогами соматостатина напрямую связан с

рецепторным статусом аденомы. В пролактиномах выявлена экспрессия всех 5 подтипов ССР с преобладанием ССР5. При исследованиях мРНК ССР количественным методом показана преобладание ССР5 по сравнению с ССР2 [76, 82, 66]. В исследовании Thodou E. и соавт. методом ИГХ показана высокая экспрессия ССР5 (85,3%) и ССР2 (52%), однако в работе использована иная системы оценка результатов, а также не представлены данные о предшествующей медикаментозной терапии и чувствительности к агонистам дофамина [144]. В настоящем исследовании показана низкая иммуноэкспрессия ССР2 и ССР5 у резистентных к агонистам дофамина пациентов с пролактиномами.

Низкая экспрессия ССР2 в пролактиномах объясняет недостаточную эффективность октреотида в снижении повышенного уровня ПРЛ у больных с пролактиномами. Это было продемонстрировано при сравнении октреотида и пасиреотида, который обладает в 40 раз больше сродством к ССР5, чем октреотид. Данное исследование показало, небольшое ингибирование секреции ПРЛ у одного из трех пациентов при лечении октреотидом, и значительное снижение уровня ПРЛ у всех трех пациентов при применении пасиреотида [77].

Положительный опыт применения аналогов соматостатина представлен Fusco A. и соавт., наблюдавшими молодого мужчину, у которого в дебюте заболевания диагностирована инвазивная макроаденома гипофиза, ПРЛ более 8000 нг/мл, битемпоральная гемианопсия, гипопитуитаризм. Пациент получал очень высокие дозы каберголина (до 3 мг в сутки), однако нормализации уровня ПРЛ не достигнуто. В связи с ухудшением зрения через 2 года лечения больному выполнена трансназальная аденомэктомия, позже еще через 2 года больной повторно оперирован последовательно транскраниальным и трансназальным доступом. При ИГХ исследовании выявлена экспрессия ССР-5, назначена терапия октреотидом. Через 12 месяцев комбинированной терапии каберголином и октреотидом впервые за время болезни достигнута нормализация ПРЛ крови. По данным МРТ за 2 года наблюдения прогрессирования опухоли не выявлено [67].

Таким образом, чувствительность больных с пролактиномами к лечению аналогами соматостатина зависит от особенностей иммуноэкспрессии в

опухолевых клетках ССР, при индивидуальном подходе у резистентных к агонистам дофамина пациентов могут быть эффективными в контроле уровня ПРЛ и размеров аденомы. Необходимо дальнейшее изучение эффективности аналогов соматостатина при резистентности к агонистам дофамина в зависимости от экспрессии разных подтипов ССР.

Пролиферативная активность клеток опухолей человека коррелирует со степенью их гистологической и биологической активности. Маркер пролиферации клеток Ki-67 – это ядерный антиген, представляющий собой основную часть нуклеарного матрикса, связанную с хромосомами в фазы митоза. Экспрессия Ki-67 позволяет выделить опухолевые клетки, находящиеся в активной фазе клеточного цикла (G1-, S-, G2- и М-фазы). Ki-67 отсутствует только в G0-периоде. Иммуногистохимическое определение индекса пролиферации Ki-67 считается наиболее достоверным показателем клеточной пролиферации в аденомах гипофиза [45].

В исследовании Delgrange E. и соавт. при сравнении резистентных и чувствительных к бромокриптину пролактином авторы обнаружили более высокие показатели индекса пролиферации Ki-67 у резистентных к агонистам дофамина пациентов [51]. Мы не проводили сравнительный анализ между чувствительными и резистентными пациентами, так как в нашей выборке чувствительным пациентам не проводилось оперативное лечение. Однако нами найдена корреляция между уровнем Ki-67 и ПРЛ в крови в дебюте заболевания. Поскольку уровень ПРЛ выше в резистентных пролактиномах, это косвенно отражает тот факт, что индекс пролиферации Ki-67 выше у резистентных, чем у чувствительных.

Согласно данным литературы, отсутствует единое мнение об информативности иммуноэкспрессии Ki-67 как маркера инвазивного роста опухоли. При исследовании аденом гипофиза продемонстрировано, что показатель Ki-67 более 3% является признаком инвазивности аденомы [143].

Мы не получили статистически достоверных различий уровня Ki-67% в группах инвазивных и неинвазивных аденом. Однако показатель Ki-67 был выше

у пациентов с супраселлярным или ретроселлярным ростом. Наши результаты согласуются с рядом работ, в которых также не обнаружено существенной разницы индекса пролиферации Ki-67 в зависимости от инвазивности опухоли [52, 124], а также от размера аденомы [99].

В нашем исследовании показана связь между маркером ангиогенеза и клиническими признаками агрессивного поведения пролактиномы. Так, количество сосудов, измеренное с помощью ИГХ окрашивания с антителами к CD34, оказалось статистически значимо выше в опухолях с параселлярным ростом, а также при инвазии в кавернозные синусы, при которых хирургическое лечение часто не достигает успеха.

Мы не обнаружили значимой зависимости между иммуноэкспрессией маркеров ангиогенеза и показателем пролиферации, измеренным с помощью антител к Ki-67, что подтверждается данными других исследований [147]. Вероятно, пролиферация и ангиогенез контролируются в аденомах гипофиза независимыми механизмами.

### **3.2. Оценка эффективности лечения пролактином**

#### **3.2.1. Агонисты дофамина**

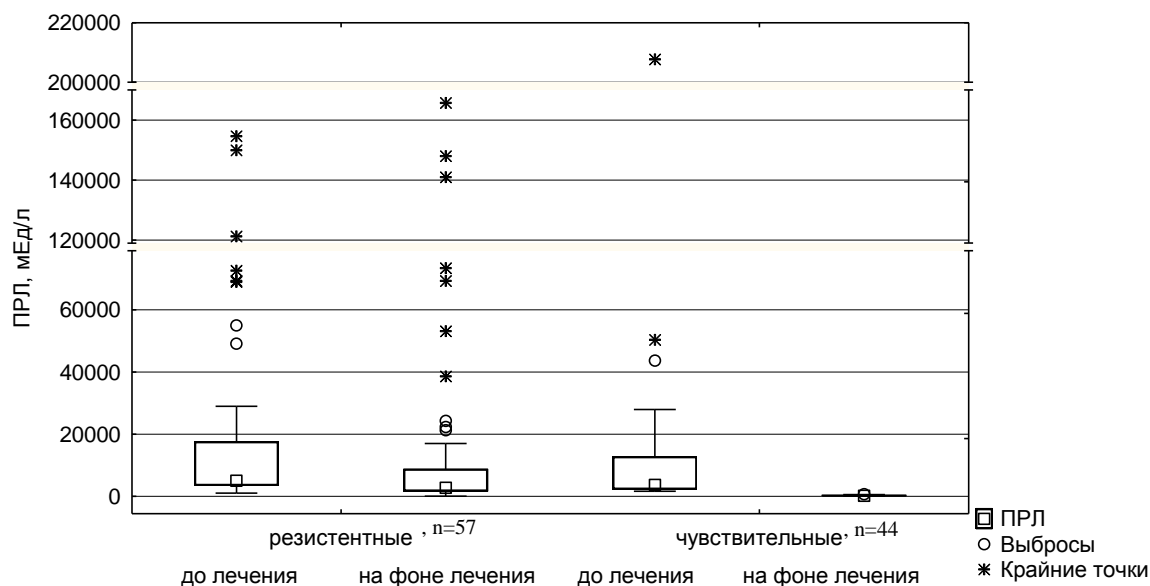
Основным методом лечения пролактином является медикаментозный. Лечение агонистами дофамина приводит к нормализации уровня ПРЛ крови, уменьшению массы аденомы, нивелированию клинических проявлений гиперпролактинемии и масс-эффекта опухоли.

Все обследованные нами больные получали каберголин в качестве первичного лечения. Доза препарата подбиралась индивидуально, под контролем уровня ПРЛ крови 1 раз в месяц. Оптимальной считается минимальная доза, на фоне приема которой нормализуется уровень ПРЛ при хорошей переносимости. В группе резистентных пациентов, увеличение дозы препарата считается целесообразным до сохранения терапевтического эффекта (снижение уровня ПРЛ крови, уменьшение размеров пролактиномы) при отсутствии выраженных побочных эффектов. Длительность приема каберголина составила 4 [2; 8] года в группе пациентов с резистентными пролактиномами, с чувствительными – 3 [1; 5] года (КМУ,  $p = 0,007$ ).

Доза каберголина значительно отличалась в группе чувствительных и резистентных пациентов (КМУ,  $p < 0,001$ ). В среднем для чувствительных пациентов доза каберголина составила 1 мг/нед [0,5; 1], минимальная доза – 0,25 мг/нед, максимальная доза – 2,5 мг/нед, для группы резистентных пациентов – 3,5 мг/нед [3; 4], минимальная доза – 3 мг/нед, максимальная доза – 10,5 мг/нед. Зависимости максимальной дозы каберголина среди резистентных пациентов от пола нами не найдено.

На фоне медикаментозного лечения в группе чувствительных пациентов у всех больных достигнута нормопролактинемия (критерий Вилкоксона,  $p < 0,001$ ). В группе резистентных пациентов на фоне длительного приема каберголина отмечено статистически значимое снижение уровня ПРЛ в крови в среднем на 45% (критерий Вилкоксона,  $p = 0,002$ ), уровень ПРЛ на фоне приема каберголина составил 2790 МЕ/л [1717; 8711]. Однако не достигнута его нормализация у

большинства пациентов (84%), уровень ПРЛ в пределах референсных значений отмечен у 9 пациентов (16%) из группы частично резистентных (Рисунок 15).



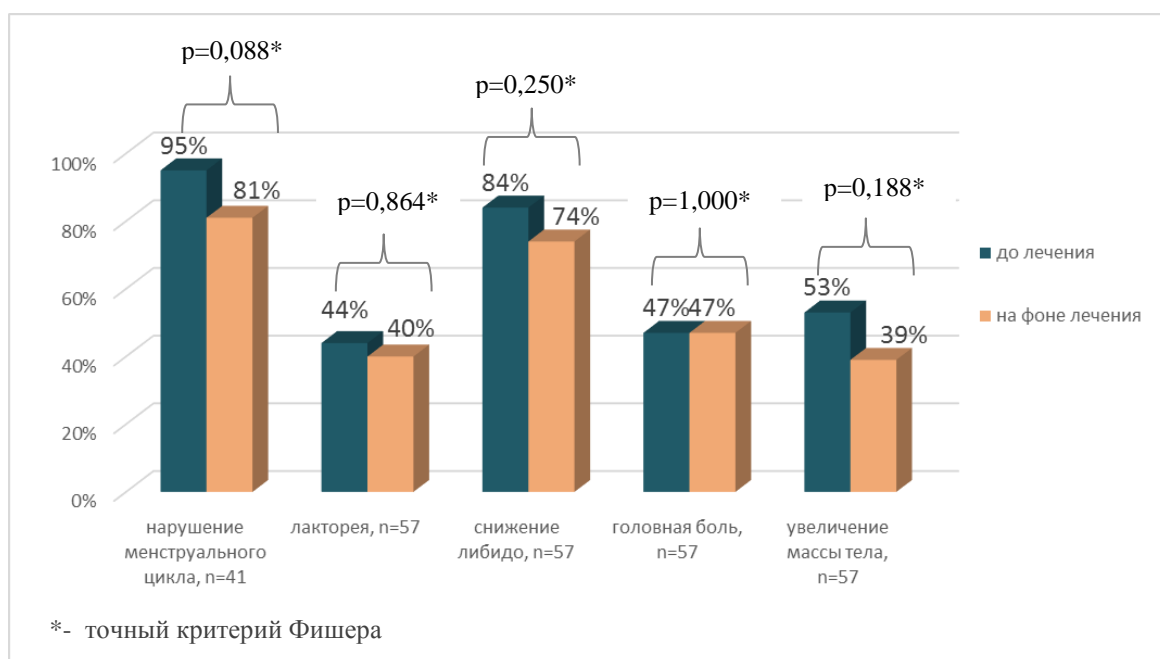
**Рисунок 15 – Динамика уровня ПРЛ в дебюте заболевания и на фоне медикаментозного лечения на момент включения в исследование**

Клинические проявления у больных, резистентных к агонистам дофамина, не имеют достоверных различий до и на фоне медикаментозного лечения (Рисунок 16).

Так, например, наиболее часто встречающееся среди женщин нарушение менструального цикла на фоне приема каберголина наблюдалось в 81% (95% ДИ [65; 91])) случаев, что статистически не отличается от значения в дебюте заболевания - 95% (95% ДИ [83; 99])), (ТКФ,  $p = 0,631$ ). Тогда как в группе чувствительных пациентов восстановление менструального цикла произошло в 99% случаев. Только у одной пациентки диагностировано конкурирующее заболевание (эндометриоз), что было причиной нарушения менструального цикла при нормализации уровня ПРЛ в сыворотке крови.

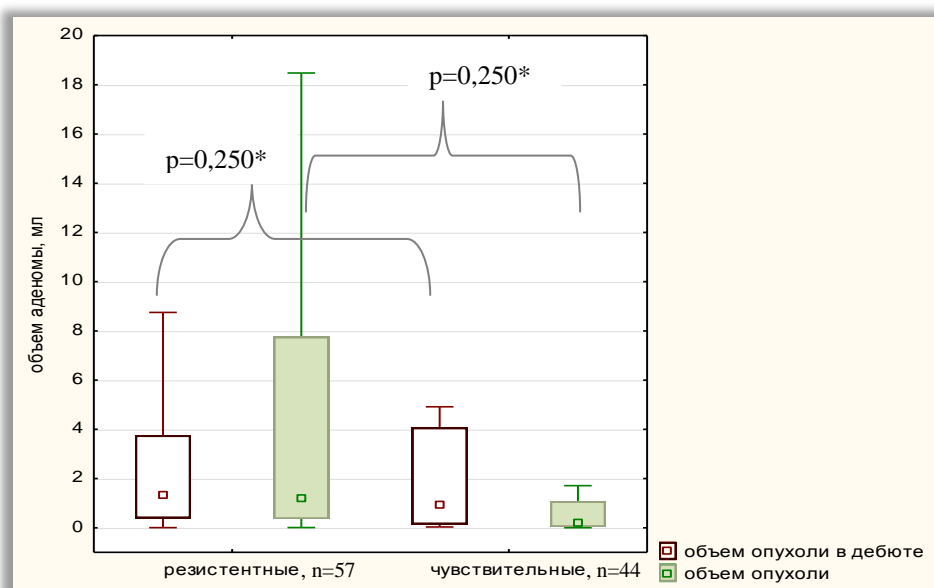
На фоне медикаментозной терапии лакторея выявлена у 23 пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина (40% (95% ДИ [28; 54])), что

статистически не отличается от значения до начала лечения (44% (95% ДИ [31; 58])), (ТКФ,  $p = 0,864$ ).



**Рисунок 16 – Клинические признаки пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина**

Анализ объема опухоли показал, что на фоне лечения каберголином в группе чувствительных пациентов происходит уменьшение объема аденомы гипофиза (критерий Вилкоксона,  $p < 0,001$ ), медиана и интерквартильный размах до лечения составили 0,960 мл [0,147; 4,063], на фоне лечения – 0,224 мл [0,038; 1,071] (Рисунок 17).



**Рисунок 17 – Изменение объема аденомы до и на фоне медикаментозного лечения**

При анализе динамики объема аденомы среди резистентных пациентов не выявлено разницы (критерий Вилкоксона,  $p = 0,871$ ), медиана и интерквартильный размах до лечения составили 1,320 мл [0,393; 3,750], на фоне лечения – 1,200 мл [0,362; 7,756].

### Обсуждение

Агонисты дофамина являются первой линией терапии пролактином, так как они подавляют продукцию ПРЛ, что приводит к исчезновению симптомов гиперпролактинемии, обладают высокой антимитотической активностью, за счет чего происходит уменьшение размеров опухоли и регресс неврологической симптоматики, вызванной масс-эффектом опухоли. В виду высокой афинности к  $D_2$ -рецепторам, длительного периода полураспада, хорошей переносимости каберголин стал препаратом выбора в последние десятилетия.

В нашем исследовании все 57 пациентов из группы резистентных принимали каберголин в дозе 3 мг/нед и более.

Согласно анализу литературы в основном исследования по изучению резистентности к агонистам дофамина описывают пациентов с более низкими дозами каберголина, 1,5-2,0 мг/нед [39, 49, 54, 145]. Это связано с тем, что не

приняты четкие критерии резистентности к агонистам дофамина. В международных клинических рекомендациях по диагностике и лечению гиперпролактинемии резистентность описана как неспособность достичь нормализации ПРЛ на фоне максимально переносимых доз агонистов дофамина и неспособность достичь уменьшения размеров опухоли на 50% без указания точной дозы и препаратов. В связи с этим исследователи эмпирически определяют дозы агонистов дофамина, применение которых относит пациентов к классу резистентных.

В проспективном исследовании Оно М. и соавт. у 150 пациентов с пролактиномой, получавших каберголин, показана нормализация ПРЛ крови практически у всех, кроме одного случая (99,3%). В 77% случаев у пациентов, ранее резистентных к другим агонистам дофамина, для нормализации ПРЛ крови требовалось менее 3 мг / неделю каберголина, остальные нуждались в более высоких дозах, при этом 1 пациент достиг терапевтической цели только после увеличения дозы каберголина до 12 мг / неделю. В исследовании отмечена хорошая переносимость каберголина, побочные эффекты выявлены только у 9% пациентов, но ни в одном случае они не были поводом для прекращения терапии [112].

В нашем исследовании из 57 пациентов в группе резистентных нормализация ПРЛ крови на фоне приема каберголина без применения дополнительных методов лечения достигнута только у 9 пациентов. Аналогичные результаты представлены в ретроспективном исследовании Vroonen L. и соавт., где описаны 92 пациента, которые получали каберголин в дозе 2мг / неделю и не достигли нормопролактинемии [157]. Это было ретроспективное исследование, в которое включены пациенты с 1973г. по 2010г., в связи с этим только 31 пациент получал каберголин в качестве первичного метода лечения. У 26 пациентов за период наблюдения произошла нормализация уровня ПРЛ крови, из них у 8 пациентов путем увеличения дозы каберголина, у 18 пациентов – после комбинированного лечения (медикаментозного и хирургического).

В этом же исследовании авторы сообщают об исчезновении опухоли в 19% случаях, а уменьшение размеров аденомы отмечено в 26,7 и 53,3% случаев при микро- и макроаденомах соответственно. Однако авторы не указывают, представлена ли динамика опухоли на фоне монотерапии каберголином или после комбинированного лечения, с чем, вероятно, связаны расхождения с данными нашего исследования, в котором не получено значимых изменений размера аденомы у резистентных к агонистам дофамина пациентов на фоне терапии каберголином.

Таким образом, в нашей работе каберголин в качестве первой линии терапии показал высокую эффективность в группе чувствительных пациентов. У пациентов, полностью резистентных к лечению каберголином, не достигнуты основные цели лечения, такие как нормализация уровня ПРЛ крови, уменьшение размеров опухоли гипофиза, исчезновение клинической симптоматики. Для данной группы больных необходимы дополнительные методы лечения.

### 3.2.2. Фармакокинетика каберголина

#### Определение уровня каберголина методом хроматографии

Статистическая обработка данных проведена в общей группе, а также отдельно в подгруппах, деление пациентов проведено в зависимости от ответа на лечение. Характеристика пациентов приведена в Таблице 16. При статистическом анализе не выявлены корреляции между уровнем каберголина на 0 минуте и дозой каберголина, которую длительно получает пациент. Не найдены различия между значениями каберголина в разных точках при проведении пробы с каберголином.

**Таблица 16 – Характеристика пациентов**

Пациент	Ответ на каберголин	Доза каберголина (мг)	Концентрация каберголина в плазме крови (пМ/Л)			
			0	30мин	120мин	240мин
1	Резистентный	6	302	170	173	95
2	Резистентный	14	130	120	110	603
3	Чувствительный	2	187	192	161	238
4	Чувствительный	3,5	155	74	45	88
5	Резистентность	7	47	59	91	95
6	Резистентность	8	207	240	233	207
7	Резистентность	6	320	258	277	223
8	Резистентность	9	104	115	116	119
9	Чувствительный	1	80	75	45	76
10	Резистентность	6	313	274	250	183

При статистической обработке полученных данных не было найдено клинически значимых закономерностей. В связи с чем данная методика определения каберголина в плазме крови не может быть применена в клинической практике для определения концентрации каберголина в плазме крови у пациентов с пролактиномами.

#### Определение уровня каберголина методом масс-спектрометрии

На первом этапе проведено определение каберголина методом масс-спектрометрии у 2 пациентов, которые имели разный ответ на лечение каберголином.

## Клиническое наблюдение №2.

Пациент Ч. При обследовании по поводу головных болей обнаружена аденома гипофиза размерами 13x15x19 мм с параселлярным ростом, гиперпролактинемия в дебюте заболевания 16060 мМЕ/л. Назначена терапия каберголином, с постепенным увеличением дозы до 1 мг/нед, на фоне чего уровень ПРЛ в сыворотке крови нормализовался. При динамическом МРТ головного мозга через 1 год медикаментозного лечения отмечена положительная динамика размеров аденомы (8x14x12 мм). Пациенту рекомендовано продолжение терапии каберголином.

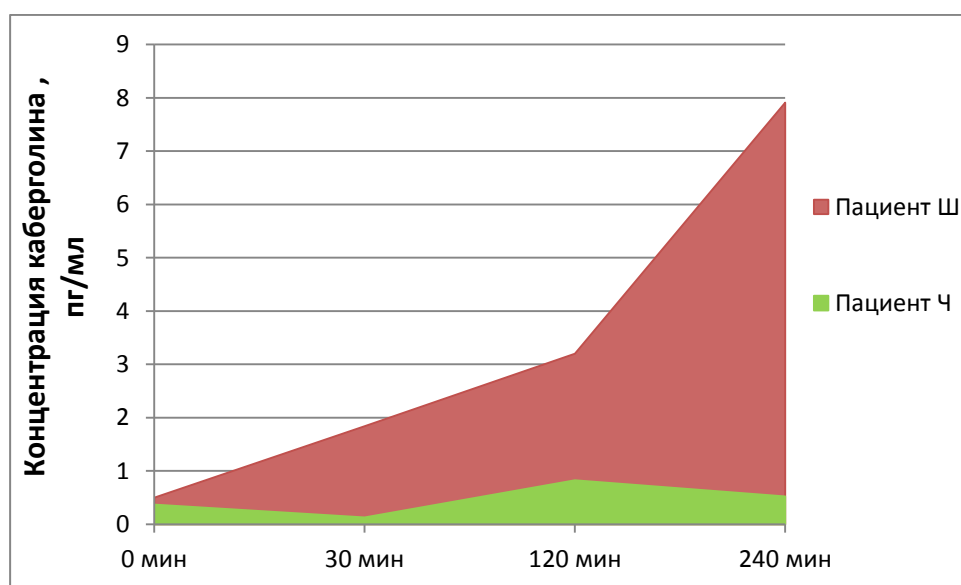
## Клиническое наблюдение №3.

Пациентка К. В возрасте 75 лет обратилась к врачу лет с жалобами на двоение в глазах, опущение верхнего века слева, головокружение, головные боли. При обследовании было выявлено, интра-супра-параселлярное образование гипофиза размерами 15x12x25 мм, муфтообразно охватывающее левую внутреннюю сонную артерию оттесняющее хиазму кверху. Гиперпролактинемия в дебюте заболевания более 4500 мЕд/л. Назначена терапия бромокриптином, который в дальнейшем был заменен на каберголин. Отмечалась положительная динамика неврологической симптоматики, уменьшение размеров аденомы до 4x6x5 мм, однако оставался повышенным уровень ПРЛ сыворотки крови. Постепенно доза каберголина увеличена до 3 мг/нед, однако нормализации ПРЛ не достигнута. В дальнейшем отмечена выраженная отрицательная динамика размеров аденомы. Через 3 года по данным МРТ головного мозга визуализировалось образование хиазмально-селлярной области неправильной формы, неоднородной структуры с кистозным компонентом, размерами до 32x40x32 мм, распространяющееся супраселлярно больше влево, деформируя хиазму, параселлярно в оба кавернозных синуса; инфраселлярно, выполняя пазуху основной кости, ретроселлярно с сужением цистерны моста. Уровень ПРЛ в сыворотке крови составил 69000 мЕд/л.

Пациентке было показано проведение оперативного лечения, однако учитывая высокий риск хирургического вмешательства ввиду сопутствующей

патологии и желание пациентки воздержаться от операции, трансназальная аденомэктомия не выполнена. Рекомендовано проведение лучевой терапии на область гипофиза.

При проведении фармакокинетической пробы у пациента Ч. и пациентки К. показано, что концентрация каберголина на 0 точке у них не отличались, но отличались графики прироста концентрации каберголина в ходе теста. У пациента Ч. с положительным ответом на лечение каберголином в крови достигнута равновесная концентрация каберголина, как это было показано в исследовании на здоровых добровольцах, и в ходе проведения пробы не отмечено значимых колебаний концентрации каберголина, а у пациентки К. с резистентностью к терапии агонистами дофамина отмечается резкий подъем концентрации каберголина на 120 и 240 минутах (Рисунок 18).



**Рисунок 18 – Концентрация каберголина в плазме крови у пациентов с пролактиномами**

Вторым этапом исследования фармакокинетических свойств каберголина у пациентов с пролактинсекретирующими опухолями гипофиза был анализ данных на 0 минуте проведения пробы ( $n = 18$ ). Показано, что концентрация каберголина в плазме крови на 0 минуте пробы не отличается у пациентов чувствительных и резистентных к лечению агонистами дофамина (КМИ,  $p = 0,147$ ). В группе

пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, найдена корреляция между уровнем каберголина в крови на 0 минуте пробы и дозой каберголина, которую постоянно длительно принимает пациент коэффициент корреляции Спирмена  $r = 0,89$ ,  $p = 0,019$ . Среди пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина, данная корреляция не найдена, коэффициент корреляции Спирмена  $r = 0,39$ ,  $p = 0,238$ .

На следующем этапе исследования анализировались данные фармакокинетической пробы ( $n = 10$ ) (Таблица 17).

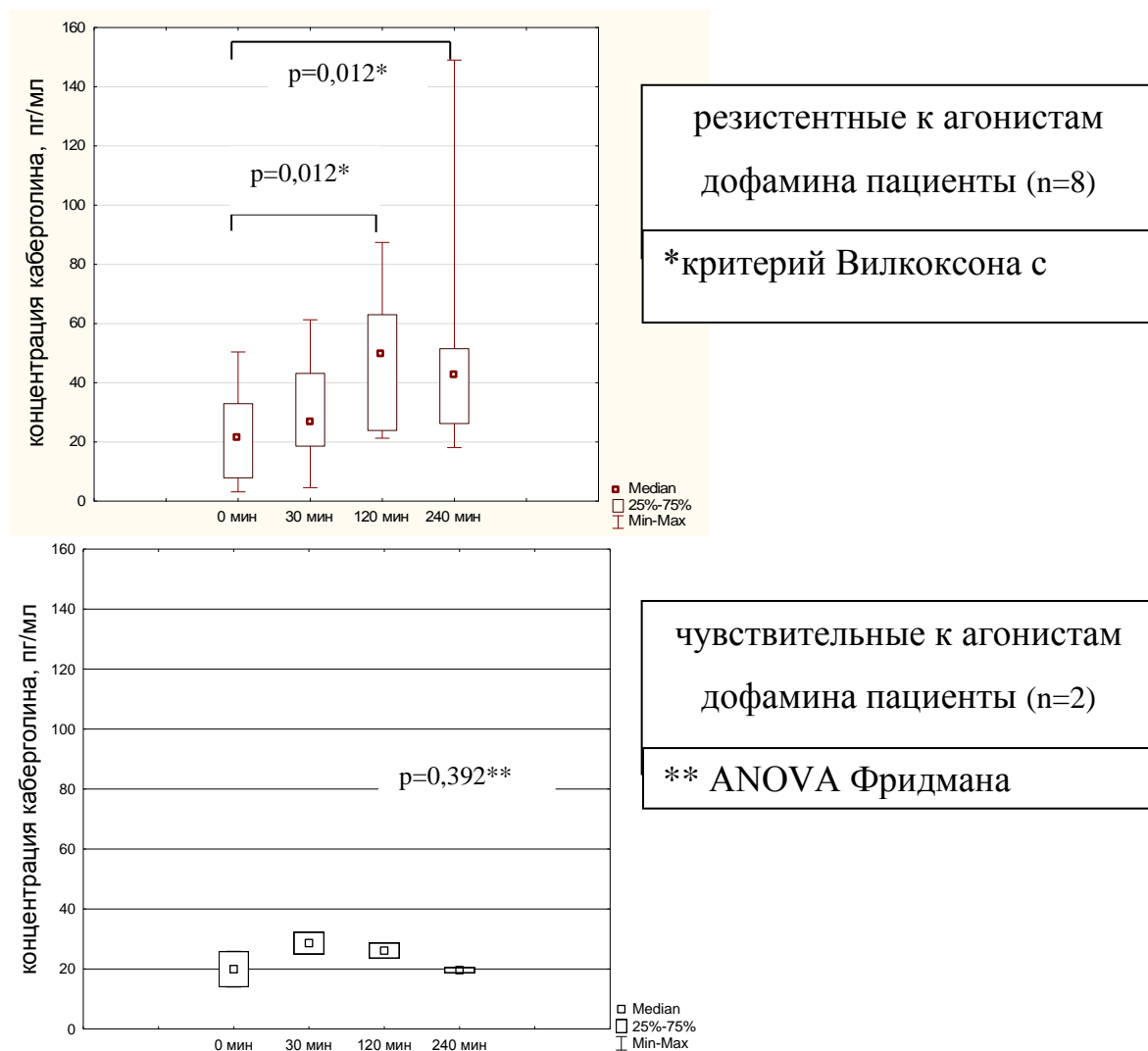
При статистической обработке полученных результатов методом сравнения нескольких зависимых переменных (ANOVA Фридмана) выявлено, что у чувствительных пациентов нет значимых изменений уровня каберголина в ходе проведения пробы ( $p = 0,392$ ) (Рисунок 19). У резистентных пациентов при этом же методе анализе имеются значимые различия уровня каберголина ( $p = 0,0119$ ).

При сравнительном анализе данных показано, что концентрация каберголина в крови у пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина, резко возрастает на 120 минуте пробы.

Выявлена статистически значимая разница при сравнении показателей на 0 и 120 минуте по критерию Вилкоксона,  $p = 0,012$ , что нами признано статистически значимым с учетом поправки Бонферрони (число сравнений 3, критически значимый уровень  $p = 0,017$ ). Также отличия признаны статистически значимыми при сравнении показателей на 0 и 240 минуте (Рисунок 19).

**Таблица 17 – Медиана и интерквартильный размах концентрации каберголина в крови у пациентов с пролактиномами в ходе пробы**

	0 мин	30 мин	120 мин	240 мин
Резистентные ( $n = 8$ )	22 [8 ; 33]	27 [19 ; 43]	50 [24 ; 63]	43 [26 ; 52]
Чувствительные ( $n = 2$ )	20 [14; 26]	29 [25; 32]	26 [24; 29]	20 [19; 21]



**Рисунок 19 – Концентрация каберголина в крови у пациентов с пролактиномами в ходе пробы**

Таким образом, фармакокинетика каберголина отличается у пациентов, чувствительных и резистентных к лечению агонистами дофамина, тем самым может вносить вклад в низкую эффективность лечения у пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, и предопределять отсутствие эффекта от эскалации дозы препарата.

### Обсуждение

Фармакокинетические свойства каберголина ранее изучали на этапе регистрации препарата и при болезни Паркинсона [30].

В исследовании на здоровых добровольцах было показано, что максимальная концентрация препарата достигается в крови через 2-3 часа и составляет 30-70 пг/мл при однократном приеме 0,5-1,5 мг каберголина. Было отмечено, что равновесная концентрация каберголина при многократном приеме в течение недели превышает таковую после однократного приема в 2-3 раза. Абсолютная биодоступность каберголина в настоящее время неизвестна. При изучении фармакокинетических свойств каберголина было показано, что значительная часть принятой дозы подвергается эффекту «первого прохождения» через печень, и в крови определяются очень низкие значения неизмененного препарата. Подвергается экстенсивному метаболизму преимущественно путем гидролиза по ацилмочевинной связи или остаткам мочевины. Основные метаболиты каберголина не активны в отношении D<sub>2</sub>-рецепторов и, таким образом, не оказывают гипопролактинемического эффекта. Биотрансформация в печени с участием цитохрома P450 минимальна. Связывание с белками плазмы составляет 40%. Каберголин и/или его метаболиты хорошо распределяются в тканях: в исследованиях на животных с измерением общей радиоактивности выявлено более чем 100-кратное превышение концентрации каберголина и/или его метаболитов в гипофизе в сравнении с их содержанием в плазме крови. Период полувыведения составляет 63–69 ч; медленное выведение обеспечивает пролонгированный гипопролактинемический эффект. Выявлено, что каберголин выводится почками и кишечником (22% и 60% соответственно) в течение 20 дней; менее 4% обнаружено в моче в неизмененном виде [30, 48].

Проведенные исследования на здоровых добровольцах не могут в точной степени отражать, фармакокинетику каберголина у пациентов с гиперпролактинемией.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что фармакокинетические свойства каберголина у чувствительных к терапии пациентов с пролактиномами схожи с результатами, полученными у здоровых добровольцев. У резистентных к терапии каберголином пациентов

фармакокинетика каберголина отличается от таковой у пациентов, отвечающих на медикаментозное лечение.

Способ выбора тактики ведения пациентов с резистентными к консервативному лечению пролактинсекретирующими аденомами гипофиза заключается в том, что при нарастании концентрации препарата после приема в течение 240 минут выявляют необходимость применения альтернативных методов лечения. А при отсутствии динамики роста концентрации каберголина в крови целесообразно продолжение консервативной терапии с использованием каберголина с увеличением его дозы до максимально разрешенной - 4,5 мг в неделю.

Таким образом, предложенная методика определяет персонифицированный подход к ведению и лечению пациентов с частично резистентными пролактинсекретирующими аденомами гипофиза, позволяет в кратчайшие сроки выделить пациентов-кандидатов для выполнения оперативного лечения, минуя классический период выжидательной тактики с подбором оптимальной дозировки препарата под контролем уровня пролактина в крови и динамического выполнения магнитно-резонансного исследования области турецкого седла. Учет индивидуальных особенностей метаболизма каберголина позволяет избежать развития осложнений ввиду неэффективности терапии, сократить денежные и трудозатраты на дополнительное обследование в выжидательный период при общепринятой методике ведения данной группы пациентов.

Кроме того, методика определения концентрации каберголина в плазме крови позволяет произвести анализ фармакокинетики и фармакодинамики препарата у пациентов с различной эффективностью консервативной терапии и тем самым создать базу для изучения возможных причин резистентности пациентов с гиперпролактинемией к лечению каберголином.

### 3.2.3. Оперативное лечение

Оперативное лечение проведено 36 пациентам (63%), из них 7 пациентов оперированы 2 раза, один 3 раза. Частота повторного проведения операции не зависела от инвазивного характера роста опухоли (ТКФ,  $p = 0,691$ ). Трансназальный доступ применен у 31 пациента, 5 пациентов оперированы транскраниально. Время от дебюта заболевания до проведения оперативного лечения составило 4 [2; 7] года.

Радикальность проведения оперативного вмешательства оценивалась по уровню ПРЛ в раннем послеоперационном периоде. При достижении нормализации уровня ПРЛ или снижении его ниже нормы проведение операции расценивалось как радикальное (Таблица 18).

**Таблица 18 – Исходы операций**

Исход операции	Количество пациентов (%)
Операция проведена радикально	14 (39% (95% ДИ [23; 56]))
Медикаментозный контроль при приеме каберголина в меньших дозах, чем до операции	3 (8% (95% ДИ [2; 22]))
Медикаментозный контроль при приеме бóльших доз каберголина, чем до операции	3 (8% (95% ДИ [2; 22]))
Отсутствие медикаментозного контроля – высокий уровень ПРЛ в крови при приеме высоких доз каберголина	16 (45% (95% ДИ [28; 62]))

При сравнительном анализе пациентов в зависимости от радикальности проведения операции, показано, что в группе пациентов, которым операция выполнена радикально, предоперационный уровень ПРЛ сыворотки крови на фоне медикаментозной терапии был ниже (2669 [1784; 4385] против 16190 мЕд/л [2140; 53127], КМУ,  $p = 0,026$ ). У женщин чаще операция проведена радикально в 60% случаев, тогда как у мужчин только в 12,5% (ТКФ,  $p = 0,006$ ).

Радикальность проведения операции зависела от инвазивного характера роста опухоли и гигантского размера аденомы. В группе пациентов с инвазивным ростом аденомы операция выполнена радикально в 25% (95% ДИ [10; 47]))

случаев, в группе пациентов с неинвазивными аденомами – 67% (95% ДИ [35; 90])) (ТКФ,  $p = 0,028$ ). У больных с размером опухоли менее 4см аденомэктомия выполнена радикально в 45% случаев, у больных с гигантскими аденомами диаметром более 4 см – ни у одного пациента (ТКФ,  $p = 0,029$ ).

Отмечено, что у больных с хиазмальным синдромом радикально проведено оперативное лечение только в 9% случаев, а у больных без хиазмального синдрома – в 52% (ТКФ,  $p = 0,025$ ).

Послеоперационный несахарный диабет выявлен у 9 пациентов (25%), из них у 2 транзиторный, у 7 пациентов – постоянный, потребовавший назначения терапии десмопрессином.

При оценке тропных функций гипофиза в послеоперационном периоде у 3 пациентов (8%) впервые выявлен вторичный гипотиреоз, у 3 (8%) – вторичная надпочечниковая недостаточность. У двух пациентов диагностирован пангипопитуитаризм.

### Обсуждение

В качестве первичного и единственного метода лечения хирургический метод используется крайне редко. В нашем исследовании нормализация уровня ПРЛ крови после проведения оперативного лечения произошла у 39% пациентов. У женщин операция чаще проведена успешно, что связано с более инвазивным ростом аденомы у мужчин, а также у пациентов с неинвазивными аденомами.

Полученные нами результаты схожи с исследованием Hamilton D.K. и соавт., в котором авторы оценивали результаты хирургического лечения больных с непереносимостью агонистов дофамина (18 пациентов) и с резистентностью к агонистам дофамина (61 пациентов) [73]. В первой группе пациентов у 67% после операции отмечалась нормализация уровня ПРЛ, тогда как среди резистентных пациентов нормализация ПРЛ достигнута только у 36%. Низкая эффективность оперативного лечения отражает тот факт, что 74% резистентных к терапии пациентов имели инвазивные макроаденомы, по сравнению с 50% пролактином из группы пациентов с непереносимостью агонистов дофамина.

Многочисленные исследования показывают, что результаты трансфеноидальной аденомэктомии отличаются у пациентов с микро- и макроаденомами. При микроаденомах нормализация уровня ПРЛ крови наблюдается в 85 - 90% [19, 110, 120, 146]. В ретроспективном исследовании Babey M. и соавт. оценили эффективность хирургического лечения в качестве первичного метода терапии (без предшествующего назначения агонистов дофамина) небольших пролактином. В исследование были включены пациенты с микроаденомами размером до 10 мм и неинвазивными макроаденомами размерами до 20 мм. Длительная ремиссия была достигнута у 22 из 24 пациентов (91%) с микропролактиномами и у 8 из 10 пациентов (80%) с макропролактиномами, медиана периода наблюдения составила 33,5 месяца [19].

При макроаденомах нормопролактинемия достигается в 18 - 80%, что зависит от размера и инвазивности опухоли [1, 93, 151, 25]. Астафьевой Л.И. и соавт. при изучении особенности макропролактином показано, что нормализация ПРЛ крови при аденомах размерами 16-36 мм достигнута в 39% случаев, при аденомах размерами 36-59 мм – в 10% случаев, при аденомах  $\geq 60$  мм – только в 3% случаев [1].

В нашей работе среди больных, которым проведено оперативное лечение, только 3 пациента имели микроаденому, и у всех троих отмечена нормопролактинемия в раннем послеоперационном периоде. При сравнительном анализе радикальности оперативного лечения у пациентов с микро- и макроаденомами уровень  $p$  стремится к 0,05 (ТКФ,  $p=0,061$ ).

Таким образом, в нашей работе показаны хорошие результаты хирургического лечения среди микроаденом и неинвазивных макроаденом, однако хирургическое вмешательство далеко не всегда позволяет решить проблему резистентности к агонистам дофамина, и после проведенной операции часто сохраняется необходимость в продолжении консервативной терапии. Это можно объяснить тем, что пролактиномы, резистентные к агонистам дофамина, зачастую имеют инвазивный рост с прорастанием в окружающие структуры.

### **3.2.4. Лучевая терапия**

Лучевая терапия проведена 7 пациентам, из них шести ранее было выполнено оперативное лечение. Использованы разные виды лучевой терапии, в том числе гамма-терапия, конформная лучевая терапия, стереотаксическая радиотерапия на линейном ускорителе «Novalis», Гамма-нож. Время от дебюта заболевания до проведения лучевой терапии составило 4 [2; 10] года. Период наблюдения после проведения лучевой терапии составил от 1 года до 18 лет.

У 5 пациентов после проведения лучевой терапии не было значимого снижения уровня ПРЛ. У одного пациента отмечена выраженная положительная динамика в виде улучшения зрения, уменьшения цефалгического синдрома, значительного снижения уровня ПРЛ в крови, но не нормализации. У одного пациента после комбинированного лечения (прием каберголина, оперативное лечение и лучевая терапия) через 5 лет от проведения радиотерапии на фоне продолжения приема каберголина (1мг в неделю) достигнута нормализация уровня ПРЛ в сыворотке крови. За период наблюдения из 6 пациентов, которым лучевая терапия была выполнена после медикаментозного и оперативного лечения, у 2 пациентов вторичный гипотиреоз в сочетании с вторичной надпочечниковой недостаточностью развился после оперативного лечения, у 1 – после лучевой терапии. У 3 больных после комбинированного лечения (медикаментозная терапия, оперативное лечение, лучевая терапия последовательно) не выявлено признаков гипопитуитаризма. У мужчины, которому выполнена лучевая терапия без оперативного лечения, за период наблюдения не выявлено признаков гипофизарной недостаточности.

### **Обсуждение**

Лучевая терапия, как и хирургическое лечение, не является методом выбора в лечении пролактином, поскольку в большинстве случаев пролактиномы хорошо отвечают на медикаментозное лечение. Кроме того, пролактиномы наименее

радиочувствительны из гормоносекретирующих опухолей гипофиза. В одном из исследований наблюдалась 4-летняя ремиссия у 18% пролактином, после применения радиохирургии («Гамма-нож»), что ниже по сравнению с 87% и 67% для болезни Кушинга и акромегалии, соответственно [120].

По нашим данным в 29% случаев (2 пациента) проведение лучевой терапии привело к положительной динамике течения заболевания, значимому снижению уровня ПРЛ крови и уменьшения неврологической симптоматики. Полученные нами результаты отражают данные зарубежных исследований. В исследовании Liu X. и соавт. наблюдали 22 пациента, 12 из которых были резистентны к агонистам дофамина, у 6 пациентов была непереносимость агонистов дофамина, для 3 пациентов лучевая терапия была применена в качестве первичного метода лечения [97]. После применения «Гамма-ножа» период наблюдения составил 36 месяцев. Нормализация уровня ПРЛ наблюдалась в 27% без применения агонистов дофамина и в 54,5% на фоне продолжения терапии агонистами дофамина. Схожие данные получены в других исследованиях с периодом наблюдения 60 и 76 месяцев [84, 141].

Использование лучевой терапии сопровождается риском развития осложнений в виде гипопитуитаризма, а также повреждения тканей мозга, в том числе зрительных нервов. По данным литературы при применении радиотерапии при гормонально-активных опухолях гипофиза общий риск развития гипопитуитаризма в течение 10 лет составляет 40-80% [22, 103].

При проведении «Гамма-ножа» у пациентов с пролактиномами дефицит гормонов аденогипофиза выявлен у 42% больных при наблюдении 4 года [141]. В нашем исследовании у 1 пациента после проведения лучевой терапии выявлены признаки недостаточности тропных гормонов. Вероятно, в столь низкий процент выявления гипопитуитаризма в нашей работе связан с тем, что часть пациентов уже имели дефицит гормонов аденогипофиза на момент проведения лучевой терапии в результате предшествующего оперативного лечения, а также с непродолжительным сроком наблюдения у части пациентов.

### **3.2.5. Тамоксифен в лечении пролактином, резистентных к агонистам дофамина**

В нашей работе 6 женщин получали комбинированную терапию тамоксифеном с каберголином. Возраст группы составил 27,5 [24; 33] лет. Прежде все пациентки получали каберголин длительное время в средней дозе 3 [2; 3,5] мг/нед, к которому добавлен тамоксифен. Трех пациенткам проведена трансназальная аденомэктомия в анамнезе, одна из них была оперирована дважды. Одной пациентке было проведено радиохирургическое лечение («Гамма-нож») в общей дозе 44 Гр (Таблица 19).

**Таблица 19 – Характеристика пациентов до лечения тамоксифеном**

Номер пациента	Возраст, годы	Длительность заболевания, годы	ПРЛ в дебюте заболевания, мЕд/л	ПРЛ, мЕд/л	Объем опухоли, мл	Доза каберголина мг/нед	Операция	Лучевая терапия
<b>1</b>	26	5	1781	1821	0,056	3,5	Нет	Нет
<b>2</b>	33	13	3596	1583	0,726	1 <sup>1</sup>	Да	Да
<b>3</b>	29	11	4000	2233	0,031	2,5 <sup>2</sup>	Нет	Нет
<b>4</b>	23	11	1028	3363	1,073	2 <sup>3</sup>	Да	Нет
<b>5</b>	38	14	3540	5168	0,693	7	Нет	Нет
<b>6</b>	24	11	5066	11200	0,288	3,5	Да	Нет

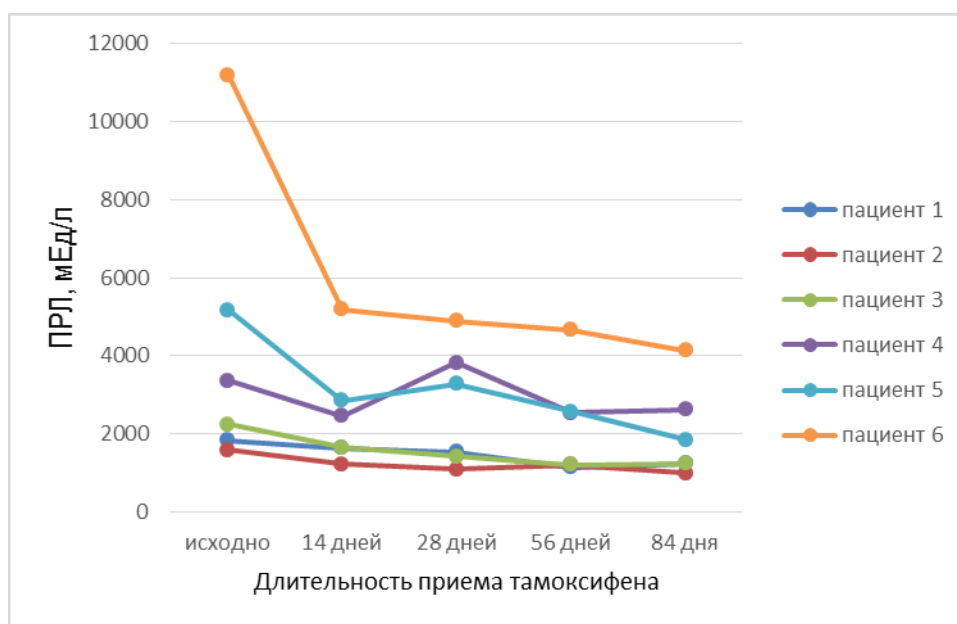
<sup>1</sup> – постепенное восстановление дозы каберголина после перерыва в его приеме в связи с предшествующим пробным лечением аналогами соматостатина, в анамнезе длительный прием каберголина 3,5 мг /нед

<sup>2</sup> – доза каберголина, на фоне приема которой регулярный менструальный цикл, по экономическим причинам доза каберголина не увеличена, в анамнезе длительный прием каберголина 3 мг /нед

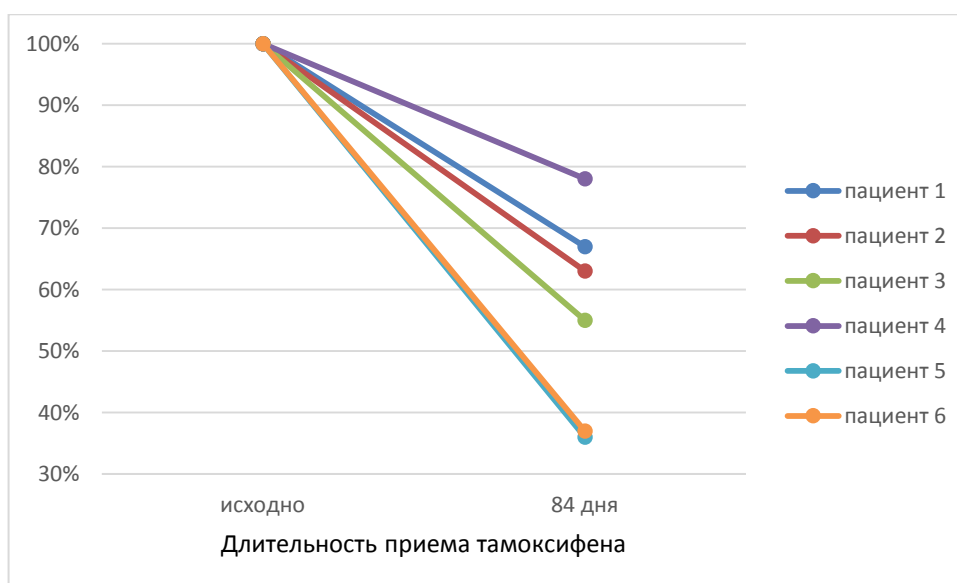
<sup>3</sup> - дальнейшее увеличение доза препарата не приводило к снижению уровня ПРЛ, по экономическим причинам доза каберголина не увеличена, в анамнезе прием каберголина 3,5 мг /нед

При статистической обработке полученных результатов установлено, что тамоксифен при применении в комбинированной терапии с каберголином, приводит к снижению уровня ПРЛ в крови у пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина.

На фоне комбинированной терапии тамоксифеном и каберголином статистически значимое снижение уровня ПРЛ в крови наблюдалось у всех пациенток (Критерий Фридмана,  $\chi^2(4) = 16,13$ ,  $p = 0,003$ ) (Рисунок 20). Медиана относительного снижения уровня ПРЛ составила 41% [33; 63] через 3 месяца лечения (Рисунок 21). Однако нормализации ПРЛ не было отмечено ни у одной пациентки (Таблица 20).



**Рисунок 20 – Динамика уровня ПРЛ на фоне лечения тамоксифеном**



**Рисунок 21 – Динамика снижения уровня ПРЛ через 3 месяца лечения**

**Таблица 20 – Уровень ПРЛ у пациенток на фоне приема тамоксифена**

	Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ], мЕд/л
До приема тамоксифена	2798 [1821; 5168]
Через 14 дней приема тамоксифена	2053 [1621; 2846]
Через 28 дней приема тамоксифена	2402 [1422; 3827]
Через 56 дней приема тамоксифена	1866 [1194; 2562]
Через 84 дня приема тамоксифена	1542 [1232; 2624]

Нарушение менструального цикла было диагностировано у 5 пациенток, у одной пациентки – по типу олигоменореи и у 4 – по типу аменореи (от 6 месяцев до 12 лет). У одной пациентки менструальный цикл был регулярный (Таблица 21).

На фоне комбинированной терапии каберголином и тамоксифеном наблюдалось восстановление менструального цикла у двух пациенток. У одной из них через 1,5 месяца после отмены тамоксифена наступила беременность, которая завершилась самостоятельными родами в срок. Через 1 год после родов, когда был завершен период лактации, диагностирован вновь высокий уровень ПРЛ, и назначена терапия каберголином. У второй пациентки после прекращения приема тамоксифена снова отмечено нарушение менструального цикла по типу олигоменореи, которая далее перешла в аменорею.

**Таблица 21 – Клиническая характеристика пациентов в ходе исследования**

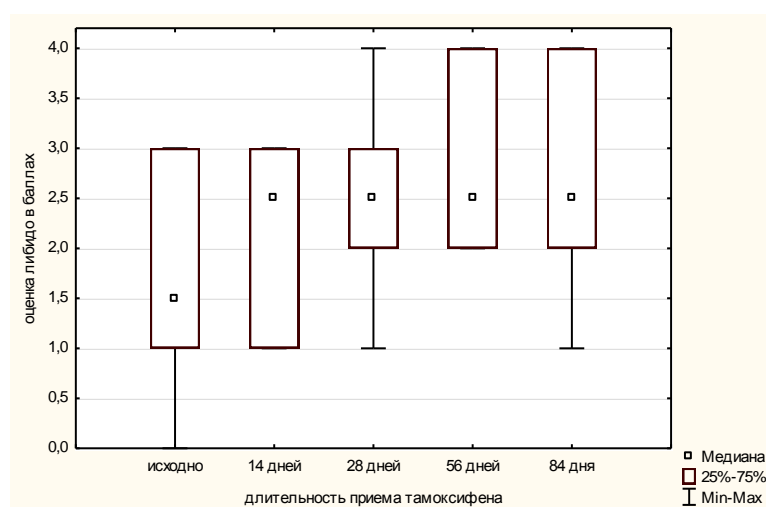
	Снижение ПРЛ, %	Менструальный цикл до приема тамоксифена	Менструальный цикл на фоне приема тамоксифена	Менструальный цикл после отмены тамоксифена	Профилактика гиперплазии эндометрия
1	32	Аменорея	Восстановление	олигоменорея → аменорея	
2	38	Аменорея	Аменорея	Аменорея	Дюфастон
3	45	Регулярный	РДВ	Беременность	
4	22	Аменорея	Восстановление	Беременность	
5	65	Олигоменорея установлена ВМС с левоноргестрелом			ВМС с левоноргестрелом
6	64	Аменорея	Аменорея	Аменорея	Дюфастон

После отмены тамоксифена двум пациенткам, у которых не восстановился менструальный цикл, после проведения УЗИ органов малого таза для профилактики гиперплазии эндометрия назначен дидрогестерон.

У одной пациентки с сохраненной менструальной функцией на фоне комбинированного лечения каберголином и тамоксифеном выявлена гиперплазия эндометрия, что послужило поводом для отдельного диагностического выскабливания и уменьшения дозы тамоксифена. В дальнейшем через 1 месяц отмены тамоксифена у этой пациентки наступила беременность, завершившаяся рождением двойни.

Известно, что тамоксифен способен вызывать изменения в эндометрии, такие как гиперплазия, полип, рак [85]. Поэтому было принято решение с целью профилактики гиперплазии эндометрия установить внутриматочную систему с содержанием левоноргестрела одной женщине с беременностью и родами в анамнезе, что было выполнено за 2 месяца до начала приема тамоксифена.

Лакторея выявлена у 5 пациенток, у одной отсутствовала. В ходе исследования ни у одной пациентки не отмечено изменения степени лактореи. При оценке данных опросников, заполняемых пациентками, отмечено повышение либидо, критерий Фридмана,  $\chi^2(4) = 10,98$ ,  $p = 0,027$  (рисунок 22).



**Рисунок 22 – Изменение либидо на фоне приема тамоксифена**

Статистически значимых изменений в частоте и интенсивности появления головной боли и головокружения на фоне приема тамоксифена не найдено.

При проведении лабораторного обследования пациентов с целью оценки безопасности приема тамоксифена, не было выявлено отрицательного влияния на углеводный, жировой, фосфорно-кальциевый обмен, систему крови, функцию почек, печени. Также не отмечено влияния приема тамоксифена на изменение ИМТ. До начала комбинированной терапии средний ИМТ составил 20,6 [19,8; 22,8], после окончания приема тамоксифена – 21,85 [19,5; 22,4], (критерий Вилкоксона,  $p = 0,917$ ). На основании анализа данных опросников, заполняемых пациентами на каждом визите, отслеживались нежелательные явления. При проведении статистического анализа (ANOVA Фридмана) достоверных результатов за появление побочных эффектов, таких как приливы, жажда, тошнота, рвота, нарушение стула при приеме тамоксифена не получено.

### Обсуждение

Тамоксифен относится к селективным модуляторам эстрогеновых рецепторов, которые действуют как эстрогены в одних тканях-мишенях и одновременно оказывают антагонистический эффект в других. Тамоксифен оказывает противоопухолевое действие, механизм которого обусловлен способностью конкурентно связывать эстрогеновые рецепторы в органах-мишенях и опухолях, происходящих из этих органов, в том числе в передней доли гипофиза. В противоположность комплексу эстроген–рецептор, комплекс рецептор–тамоксифен не стимулирует синтез ДНК в ядре, а угнетает деление клетки, что приводит к регрессии опухолевых клеток и в конечном итоге их гибели.

В мировой литературе описано лишь 26 случаев применения тамоксифена при пролактиномах, и все они относятся к концу 20 века. Наиболее крупное из всех исследований проведено немецкими клиницистами Völker W. и соавт. в 1982

г., которые показали хороший аддитивный эффект тамоксифена (10 – 20 мг в сутки) при лечении бромокриптином (2,5 – 10 мг в сутки) у 6 из 10 пациенток с пролактиномами. У 6 женщин отмечено значимое снижение уровня ПРЛ крови, исчезновение аменореи и лактореи, у одной из пациенток наступила беременность на фоне такого комбинированного лечения. У четырех из 10 женщин лечение не было эффективным, и при этом не зависело от объема опухоли или клинико-лабораторных особенностей течения заболевания [156]. На сегодняшний день это единственное исследование, позволяющее судить о частоте положительного эффекта использования тамоксифена у пациентов с пролактиномами. Остальные публикации представляют собой описание клинических случаев положительного влияния тамоксифена, что, скорее всего, подвержено достаточно распространенной ошибке – преимущественной публикации результатов успешного лечения. И все же даже в исследовании Völker W. и соавт. эффективность тамоксифена отмечена у 60% больных, что еще раз демонстрирует перспективность применения препарата в комбинации с агонистами дофамина для лечения резистентных пролактинсекретирующих аденом гипофиза.

В нашем исследовании впервые было показано, что тамоксифен в комбинации с каберголином эффективно снижает уровень ПРЛ в крови у резистентных к каберголину пациентов пролактиномами, тогда как в ранее проведенных исследованиях применяли тамоксифен в качестве монотерапии или в комбинации с другими агонистами дофамина.

Исходно в 60-х годах XX века тамоксифен разрабатывался как контрацептивный препарат [121]. Вопреки ранее проведенным исследованиям на животных тамоксифена в сфере контрацепции, была выявлена его способность, наоборот, стимулировать овуляцию. В гипоталамусе тамоксифен приводит к повышению секреции гонадолиберина путем конкурентного связывания с цитоплазматическими рецепторами эстрогена, оказывая антиэстрогенный эффект, таким образом повышая выработку ЛГ и ФСГ и стимуляцию овуляции.

В исследовании женщин с бесплодием при синдроме поликистозных яичников показано, что тамоксифен может быть рассмотрен в качестве

альтернативного метода лечения при неэффективности кломифена цитрата как основного препарата для стимуляции овуляции [56]. В 12 исследованиях разных авторов 354 женщины с ановуляторным бесплодием принимали тамоксифен в дозе 5 – 80 мг в сутки в течение 4 – 7 дней в первую фазу менструального цикла, начиная с 2 – 5 дня. По результатам наблюдений наступило 105 беременностей, родился 61 ребенок, 14 беременностей (13%) закончились самопроизвольным прерыванием (Таблица 22). [21]. Однако частота самопроизвольных аборт не превышала популяционную.

**Таблица 22 – Исходы беременностей при использовании тамоксифена по данным разных авторов [21]**

	Режим приема тамоксифена		Участницы, n	Беременности, n	Родившиеся живые дети, n	Самопроизвольные аборты
	доза, мг	д.м.ц.				
Klopper A. и Hall M.	20	2-5	20	3	1	
Williamson J.G. и Elli J.D.s	20-80	2-5	32	18	11	2
Ruiz-Velasco V. и соавт.	40-60	2-5	40	15		5
Gerhard I. and Runnebaum B.	20	2-6	31	3		1
Fukushima T. и соавт.	10	3-7	17	6	6	0
Weseley A.C. и Melnick H.	10	5-9	17	1	1	
Borenstein R. и соавт.	20	3-7	43	14	7	2
Suginami H. и соавт.	20*	5-9	47	3	3	
Wu C.H.	5-30	3-7	65	32	29	3
Boostanfar R. и соавт.	20	5-9	48	10	3	1

Примечание: \* — прием совместно с кломифеном; д.м.ц. — день менструального цикла.

Мы обнаружили высокий уровень ЛГ у одной пациентки на 84 день приема тамоксифена (20 день менструального цикла) в сочетании с высоким уровнем эстрогена. При проведении УЗИ на 35 день менструального цикла выявлено желтое тело диаметром 1,7 см. Эти данные были нами расценены как признаки овуляторного цикла.

Таким образом, тамоксифен в комбинации с каберголином приводит к снижению уровня ПРЛ крови, но не позволяет полностью достичь его нормализации у пациентов с исходной резистентностью к агонистам дофамина. У пациенток с сохраненной менструальной функцией может вызывать гиперплазию эндометрия. У пациенток с гипоестрогенемией действие тамоксифена может способствовать наступлению беременности.

## Заключение

Пролактиномы – наиболее часто встречающиеся гормонально активные опухоли гипофиза, чаще выявляются у молодых пациентов в возрасте 20-45 лет, в связи с чем одной из основных целей лечения становится восстановление фертильности. С момента появления бромокриптина, который первым начали широко использовать в клинической практике, агонисты дофамина стали основным методом лечения пролактином у большинства пациентов. Агонисты дофамина подавляют выработку ПРЛ, а также обладают антипролиферативным эффектом. Нормализация содержания ПРЛ в крови приводит к восстановлению менструального цикла и фертильности у женщин. За счет возобновления пульсирующей секреции гонадотропинов и высвобождения ЛГ в середине цикла устраняются ановуляторные циклы, и повышается концентрация эстрогенов. У мужчин со снижением концентрации ПРЛ возрастает концентрация тестостерона, происходит реверсия симптомов гиперпролактинемического гипогонадизма.

Несмотря на успехи в лечении пролактином часть больных по-прежнему остается некомпенсированными. К настоящему времени не разработаны общепринятые критерии резистентности к терапии агонистами дофамина. Существуют исследования, в которых в качестве резистентности к агонистам дофамина принимают отсутствие нормализации уровня ПРЛ в сыворотке крови на фоне приема каберголина 1,5 – 2 мг в неделю. Другие авторы показывают, что увеличение дозы каберголина до 3 – 3,5 мг в неделю приводит к нормализации ПРЛ в сыворотке крови у большинства пациентов. Однако остаются больные, у которых смена одного агониста дофамина на другой или увеличение дозы каберголина до 3 мг в неделю не приводит к достижению целей лечения.

В настоящем исследовании впервые собрана большая группа пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина, которые принимали каберголин в дозе 3 мг в неделю и выше, что является уникальным по сравнению с другими клиническими исследованиями по изучению резистентности к агонистам дофамина. Нами изучены клинические, радиологические, гистологические,

иммуногистохимические особенности пролактинсекретирующих опухолей гипофиза, резистентных к терапии агонистами дофамина.

В ходе проведенной работы выявлено, что резистентность к агонистам дофамина у пациентов с пролактиномами наиболее часто развивается у молодых пациентов, медиана возраста 31 год [26; 38], с превалированием женщин 2,6:1. Клинические проявления пролактином складываются из признаков гиперпролактинемии и симптомов, обусловленных наличием объемного образования в хиазмально-селлярной области. В клинической картине заболевания у женщин с пролактиномами, резистентными к агонистам дофамина, преобладают симптомы гиперпролактинемии такие как нарушение менструального цикла (95%), лакторея (56%), у мужчин – половые нарушения в виде снижения либидо и потенции (83%), увеличение массы тела (80%), головная боль (60%). При сравнительном анализе групп пациентов показано, что у пациенток с резистентными к лечению агонистами дофамина пролактиномами чаще, чем у женщин с чувствительными пролактиномами, встречается первичная аменорея (39% vs. 7%). Среди мужчин отличий клинических проявлений пролактиномы между пациентами с чувствительными и резистентными пролактиномами не обнаружено. Кроме того, отмечены возрастные особенности у женщин, не найденные у мужчин. Женщины с резистентностью к агонистам дофамина моложе по сравнению с отвечающими на лечение (29 [25; 34] и 37 [29; 44] лет соответственно), имеют более ранний возраст дебюта заболевания (17 [15; 22] и 30 [23; 41] лет соответственно), и большую длительность заболевания (11 [6; 14] и 4 [1; 9] года соответственно).

Согласно результатам проведенного лабораторного исследования для пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, характерен более высокий уровень ПРЛ сыворотки крови при постановке диагноза по сравнению с пациентами с пролактиномами, чувствительными к лечению агонистами дофамина (5033 мЕд/л [3513; 17547] и 3667 мЕд/л [2332; 12720] соответственно). Причем у женщин с резистентными пролактиномами уровень ПРЛ в дебюте заболевания статистически значимо выше, чем у женщин с

чувствительными пролактиномами (КМУ,  $p = 0,033$ ), а среди мужчин такой разницы не выявлено (КМУ,  $p = 0,231$ ). В отличие от группы пациентов с чувствительными к терапии агонистами дофамина пролактиномами у пациентов с резистентными пролактиномами исходный уровень ПРЛ сыворотки крови одинаково высок при инвазивных и неинвазивных аденомах.

Среди пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, чаще выявляются макроаденомы (79%) с инвазивным ростом, супра- и ретроселлярным распространением, наличием корреляции между объемом аденомы и уровнем ПРЛ в сыворотке крови как в дебюте заболевания ( $r = 0,55$ ,  $p < 0,001$ ), так и на фоне лечения агонистами дофамина ( $r = 0,38$ ,  $p = 0,011$ ). Тогда как у пациентов с чувствительными к терапии агонистами дофамина пролактиномами показана корреляция в дебюте заболевания ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,001$ ) и ее исчезновение на фоне медикаментозного лечения и нормализации уровня ПРЛ ( $r = -0,23$ ,  $p = 0,155$ ).

При проведении ИГХ исследования иммуноэкспрессия ПРЛ проявляется в 95% случаев. В 15% случаев выявлена сочетанная экспрессия ПРЛ и СТГ при отсутствии клинических признаков акромегалии и уровне СТГ в крови 0,1-0,3 нг/мл. Нами выявлено, что пролактиномы, резистентные к агонистам дофамина, характеризуются низкой иммуноэкспрессией CCR2, CCR5, ЭРА, D<sub>2</sub>-рецепторов. В 30% случаев не выявлена иммуноэкспрессия ни одного из исследованных нами рецепторов. Иммуноэкспрессия D<sub>2</sub>-рецепторов выявлена в 45% наблюдений, из которых примерно в половине случаев (44%) отмечено сочетание с другими изучаемыми рецепторами: D<sub>2</sub>-рецепторы + ЭРА (33%), D<sub>2</sub>-рецепторы + CCR5 (11%), одновременная иммуноэкспрессия трех и более видов рецепторов не выявлена. При сравнительном анализе групп пациентов с положительной и отрицательной иммуноэкспрессией D<sub>2</sub>-рецепторов клинических отличий не выявлено, но обнаружено статистически значимое различие по наличию псаммомных телец ( $p = 0,026$ ). Мы предположили, что наличие псаммомных телец связано с предшествующей терапией агонистами дофамина. У пациентов с отрицательной иммуноэкспрессией D<sub>2</sub>-рецепторов отсутствует точка приложения

действия каберголина, в связи с чем не происходит образования псаммомных телец. Положительная иммуноэкспрессия ССР2 выявлена в 10% случаев, ССР5 – также в 10% случаев. Сочетания иммуноэкспрессии ССР2 и ССР5 типа нами не обнаружено. В 30% случаев выявлена экспрессия ЭРа. Мы не обнаружили отличий между группами пациентов в зависимости от иммуноэкспрессии ЭРа.

Для пролактином, резистентных к агонистам дофамина, характерен низкий пролиферативный потенциал, Ki-67 более 3% диагностирован только в 15% наблюдений, в 65% случаев Ki-67 составил 0. Мы не выявили зависимости показателя Ki-67 от пола, возраста больных, длительности заболевания, объема аденомы и инвазивного роста опухоли. Нами оценен показатель Ki-67 в зависимости от направления роста аденомы и показано, что Ki-67 выше при наличии супра– или ретроселлярного роста (КМУ,  $p = 0,047$  и  $p = 0,022$  соответственно). Мы выявили корреляцию между уровнем Ki-67 и ПРЛ в сыворотке крови в дебюте заболевания ( $r = 0,59$ ,  $p = 0,008$ ). Связи между иммуноэкспрессией Ki-67 и такими гистологическими характеристиками как наличие митозов, полиморфизма ядер, CD34 обнаружено не было.

С целью оценки ангиогенеза опухолей было посчитано количество сосудов в аденомах, измеренное с помощью антител к маркеру сосудистого эндотелия CD34. Медиана количества сосудов в нашей работе составила 37 [25; 85]. Выявлено, что количество сосудов статистически значимо выше в опухолях с параселлярным ростом, а также при наличии инвазией в кавернозные синусы, при которых хирургическое лечение часто не достигает успеха (ТКФ,  $p = 0,04$ ).

Медикаментозное лечение агонистами дофамина в настоящее время является первой линией терапии пролактином. В проведенном нами исследовании в группе чувствительных к терапии агонистами дофамина пациентов нормализация уровня ПРЛ сыворотки крови достигнута при приеме каберголина 1 мг/нед [0,5; 1]. В группе резистентных пациентов доза каберголина составила 3,5 мг/нед [3; 4], при этом отмечено снижение уровня ПРЛ в среднем на 45% от исходного, а нормализация достигнута только у 16% пациентов, которые классифицированы нами как частично резистентные в связи с отсутствием

положительной динамики размеров опухоли или достижением целей лечения на фоне каберголина более 3 мг/нед.

Объем аденомы гипофиза на фоне медикаментозного лечения значимо не уменьшился в группе резистентных пациентов (критерий Вилкоксона,  $p = 0,871$ ) в отличие от показателей в группе чувствительных больных, где выявлено сокращение объема опухоли более чем в 3 раза (критерий Вилкоксона,  $p < 0,001$ ).

Нами разработана и впервые проведена фармакокинетическая проба с определением концентрации каберголина в плазме крови исходно и через 30, 120 и 240 мин после перорального приема 0,5 мг препарата. Предложенный способ на основании лабораторного анализа индивидуальных фармакокинетических особенностей метаболизма каберголина позволяет выработать наиболее рациональную тактику ведения пациентов с нечувствительными к лечению агонистами дофамина опухолями в максимально сжатые сроки.

В нашем исследовании оперативное лечение проведено 36 пациентам (63%) в качестве второй линии терапии при выявлении резистентности к агонистам дофамина. В 39% случаев после проведения оперативного лечения произошла нормализация уровня ПРЛ сыворотки крови. Нами отмечено, что операция проведена радикально чаще у пациентов с неинвазивными аденомами, при размерах опухоли менее 4 см, при отсутствии клинических признаков хиазмального синдрома в виде сужения полей зрения и у женщин чаще, чем у мужчин.

Лучевая терапия не является методом выбора лечения пролактином в виду низкой радиочувствительности пролактином по сравнению с другими гормоносекретирующими опухолями гипофиза. По представленным нами данным 6 из 7 пациентам лучевая терапия проведена после медикаментозного и оперативного лечения. У 5 пациентов после проведения лучевой терапии не отмечено значимого снижения уровня ПРЛ за период наблюдения, который составил 1 – 18 лет.

Нами впервые проведено пилотное исследование по изучению эффективности и безопасности применения селективного модулятора

эстрогеновых рецепторов тамоксифена у 6 пациенток с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, в котором показано, что тамоксифен снижает уровень ПРЛ сыворотки крови на 41% при комбинированном лечении с каберголином. Восстановление менструального цикла наблюдалось у двух из четырех пациенток с исходной аменореей. У одной женщины с регулярным менструальным циклом выявлена гиперплазия эндометрия, в связи с чем выполнено раздельное диагностическое выскабливание и уменьшение дозы тамоксифена. После отмены тамоксифена у 2 пациенток наступила беременность. Все пациентки отметили хорошую переносимость препарата, данных за появление побочных эффектов, таких как приливы, жажда, тошнота, рвота, нарушение стула при приеме тамоксифена не получено.

Очевидна необходимость проведения дальнейших исследований для оценки безопасности длительного применения тамоксифена, а также размеров аденомы при динамическом проведении МРТ головного мозга на фоне терапии тамоксифеном. Учитывая значимое снижение уровня ПРЛ крови на фоне приема тамоксифена в комбинации с каберголином, но отсутствие его нормализации, необходимо изучение возможности и целесообразности увеличения дозы тамоксифена. В связи с тем, что у пациентов с пролактиномами зачастую основной жалобой является бесплодие, представляет интерес оценка овуляции и динамики уровней гонадотропинов.

Наиболее перспективными представляются дальнейшие исследования с участием большего числа пациентов, направленные на изучение особенностей фармакокинетики каберголина у пациентов с пролактиномами, резистентными к терапии агонистами дофамина, что позволит индивидуализировать подход к лечению таких пациентов.

### Выводы

1. Клинические проявления пролактинсекретирующих аденом гипофиза у мужчин чувствительных и резистентных к агонистам дофамина не отличаются. Женщины резистентные к агонистам дофамина с пролактиномами моложе, возраст дебюта заболевания у них меньше, длительность заболевания – больше, первичная аменорея встречается чаще, чем у женщин, чувствительных к агонистам дофамина.
2. Уровень пролактина в сыворотке крови в дебюте заболевания у резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов с пролактиномами выше, чем у чувствительных, не отличается при инвазивных и неинвазивных аденомах. Положительная корреляция средней силы между объемом аденомы и уровнем пролактина в сыворотке крови присутствует как в дебюте заболевания, так и на фоне лечения агонистами дофамина.
3. Среди резистентных к лечению агонистами дофамина пролактином чаще встречаются макроаденомы с супраселлярным (49% vs. 11%), инвазивным (67% vs. 36%) характером роста аденомы, реже – эндоселлярные аденомы (19% vs. 50%) по сравнению с чувствительными.
4. Резистентные к агонистам дофамина пролактиномы способны экспрессировать соматотропный гормон (15%) без клинических проявлений, дофаминовые рецепторы 2 типа (45%), соматостатиновые 2 типа (10%) и 5 типа (10%), эстрогеновые рецепторы  $\alpha$  (30%), характеризуются низким пролиферативным потенциалом, усиленным ангиогенезом при наличии параселлярного роста.
5. Применение тамоксифена в комбинации с каберголином через 3 месяца терапии ведет к снижению уровня пролактина на 41% у женщин с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина.
6. Низкая эффективность каберголина в лечении резистентных к агонистам дофамина пациентов с пролактиномами может быть обусловлена особенностями его фармакокинетики.

### **Практические рекомендации**

1. Рекомендуется использовать следующие критерии резистентности к агонистам дофамина у пациентов с пролактиномами: отсутствие нормализации уровня ПРЛ в сыворотке крови и/или отсутствие уменьшения объема аденомы на 50% и более на фоне приема каберголина 3 мг в неделю в течение 6 месяцев.
2. Исследование макропролактина у пациентов с пролактиномами, резистентными к лечению агонистами дофамина, не целесообразно.
3. Селективный модулятор эстрогеновых рецепторов тамоксифен может быть рассмотрен организаторам клинических исследований в качестве дополнительного медикаментозного лечения женщин репродуктивного возраста с пролактиномами, резистентными к лечению каберголином, и аменореей с контролем состояния эндометрия с помощью УЗИ.
4. Требуется клиническая апробация применения фармакокинетической пробы для определения тактики ведения пациентов с пролактиномами, резистентными к терапии агонистами дофамина.

**Список сокращений и условных обозначений**

АКТГ – аденотропный гормон

АЛТ – Аланинаминотрансфераза

АСТ – Аспартатаминотрансфераза

биоПРЛ – биологически активный пролактин

Д<sub>2</sub>-рецептор – дофаминовый рецептор 2 типа

ДИ – доверительный интервал

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ИХЛА - иммунохемилюминисцентный анализ

КМУ – Критерий Манна-Уитни

ЛГ – лютеинизирующий гормон

МПКТ – минеральная плотность костной ткани

МРТ – магнитно-резонансная томография

ПРЛ – пролактин

ПЭГ – полиэтиленгликоль

СМЭР – селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов

ССР2 – соматостатиновые рецепторы 2 типа

ССР5 – соматостатиновые рецепторы 5 типа

СТГ – соматотропный гормон

ТКФ – точный критерий Фишера

ТТГ – тиреотропный гормон

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ЭР $\alpha$  – эстрогеновые рецепторы  $\alpha$

CD34 – маркер ангиогенеза

Ki-67 – маркер пролиферативной активности

Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub> – 1-й и 3-й квартили

## Список литературы

1. Астафьева Л.И. Гигантские пролактинсекретирующие аденомы гипофиза // под ред. акад. РАН и РАМН Дедова И.И. / Клиническая нейроэндокринология. – М., 2011.– С.127.
2. Астафьева Л.И., Кадашев Б.А., Дедов И.И., Калинин П.Л., Кутин М.А., Шкарубо А.Н., Фомичев Д.В., Тенедиева В.Д., Тропинская О.Ф. Сравнительное исследование результатов хирургического и медикаментозного методов лечения макропролактином различной локализации // Вопросы нейрохирургии. – 2011. – №4. – С.3-9.
3. Гиниятуллина Е.Н. Особенности клинической симптоматики, диагностики и лечения гиперпролактинемии опухолевого и неопухолевого генеза у мужчин: дис. ... канд. мед. наук / Гиниятуллина Екатерина Наильевна; науч. рук. Л.Я. Рожинская; ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий. – М., 2009, - С. 207.
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Романцова Т.И. Синдром гиперпролактинемии. – М.– Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2004. – С.304.
5. Дзеранова Л. К., Бармина И. И. Особенности диагностики и лечения гиперпролактинемического синдрома. // Эффективная фармакотерапия в эндокринологии. – 2009 – №1 - стр. 10-17.
6. Дзеранова Л.К. Синдром гиперпролактинемии у женщин и мужчин: клиника, диагностика, лечение: дис. ... док. мед. наук / Дзеранова Лариса Константиновна; науч. конс. И.И. Дедов; ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий. – М., 2007, – С.258.
7. Кадашев Б.А., Коновалов А.Н., Калинин П.Л. и соавт. Результаты хирургического лечения аденом. Радикальность операций // под ред. проф. Кадашева Б.А. Руководство «Аденомы гипофиза». – М., 2007. – С.368.
8. Липатенкова А.К. Гранины в качестве иммуногистохимических и биохимических маркеров гормонально-неактивных аденом гипофиза: дис. ... канд. мед. наук / Липатенкова Анна Константиновна; науч. рук. Л.К.Дзеранова; ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава России. – М., 2016, - С.124.
9. Мельниченко Г.А., Гончаров Н.П., Дзеранова Л.К., Бармина И.И. Клинические и лабораторные аспекты феномена макропролактинемии // Вестник российской академии медицинских наук. – 2007. - №3. – стр. 52-54.
10. Acquati S., Pizzocaro A., Tomei G., Giovanelli M., Libè R., Faglia G., Ambrosi B. A comparative evaluation of effectiveness of medical and surgical therapy in patients with macroprolactinoma // J Neurosurg Sci. – 2001. – Vol.45, №2. – P.65–69.

11. Agustsson T.T., Baldvinsdottir T., Jonasson J.G., Olafsdottir E., Steinthorsdottir V., Sigurdsson G., Thorsson A.V., Carroll P.V., Korbonits M., Benediktsson R. The epidemiology of pituitary adenomas in Iceland, 1955-2012: a nationwide population-based study // *Eur J Endocrinol.* – 2015. – Vol.173, №5. – P.655-664.
12. Al-Brahim N.Y., Asa S.L. My approach to pathology of the pituitary gland // *J Clin Pathol.* – 2006. – Vol.59. – P.1245–1253.
13. Asa S.L., Bamberger A.M., Cao B., Wong M., Parker K.L., Ezzat S. The transcription activator steroidogenic factor-1 is preferentially expressed in the human pituitary gonadotroph // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1996. – Vol.81. – P.2165–2170.
14. Asa S.L., Ezzat S. Molecular basis of pituitary development and cytogenesis // *Front Horm Res.* – 2004. – Vol.32. – P.1–19.
15. Asa S.L., Ezzat S. The cytogenesis and pathogenesis of pituitary adenomas // *Endocr Rev.* – 1998. – Vol.19. – P.798–827.
16. Asa S.L., Puy L.A., Lew A.M., Sundmark V.C., Elsholtz H.P. Cell type-specific expression of the pituitary transcription activator Pit-1 in the human pituitary and pituitary adenomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1993. – Vol.77. – P.1275–1280.
17. Auriemma R.S., Galdiero M., Vitale P., Granieri L., Lo Calzo F., Salzano C., Ferreri L., Pivonello C., Cariati F., Coppola G., de Angelis C., Colao A., Pivonello R. Effect of chronic cabergoline treatment and testosterone replacement on metabolism in male patients with prolactinomas // *Neuroendocrinology.* – 2015. – Vol.101, №1. – P.66-81.
18. Auriemma R.S., Granieri L., Galdiero M., Simeoli C., Perone Y., Vitale P., Pivonello C., Negri M., Mannarino T., Giordano C., Gasperi M., Colao A., Pivonello R. Effect of cabergoline on metabolism in prolactinomas // *Neuroendocrinology.* – 2013 – Vol.98. – P.299–310.
19. Babey M., Sahli R., Vajtai I., Andres R.H., Seiler R.W. Pituitary surgery for small prolactinomas as an alternative to treatment with dopamine agonists // *Pituitary.* – 2011 – Vol.14, №3. – P.222–230.
20. Bahceci M., Tuzcu A., Bahceci S., Tuzcu S. Is hyperprolactinemia associated with insulin resistance in non-obese patients with polycystic ovary syndrome? // *J Endocrinol Invest.* – 2003. – Vol.26. – P.655–659.
21. Barthelmes L., Gateley C.A. Tamoxifen and pregnancy // *Breast.* 2004. Vol.13, №6. – P.446-451.
22. Becker G., Kocher M., Kortmann R.D., Paulsen F., Jeremic B., Müller R.P., Bamberg M. Radiation therapy in the multimodal treatment approach of pituitary adenoma // *Strahlenther Onkol.* – 2002 – Vol.178, №4 – P.173-186.

23. Berinder K., Nystrom T., Hoybye C., Hall K., Hulting A.L. Insulin sensitivity and lipid profile in prolactinoma patients before and after normalization of prolactin by dopamine agonist therapy // *Pituitary*. – 2011. – Vol.14. – P.199–207.
24. Berinder K., Stackenas I., Akre O., Hirschberg A.L., Hulting A.L. Hyperprolactinaemia in 271 women: up to three decades of clinical follow-up // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2005. – Vol.63. – P.450–455.
25. Bloomgarden E., Molitch M.E. Surgical treatment of prolactinomas: cons. // *Endocrine*. – 2014 – Vol.47, №3. – P.730-733.
26. Brue T., Pellegrini I., Priou A., Morange I., Jaquet P. Prolactinomas and resistance to dopamine agonists // *Horm Res*. – 1992. – Vol.38. – P.84–89.
27. Caccavelli L., Feron F., Morange I., Rouer E., Benarous R., Dewailly D., Jaquet P., Kordon C., Enjalbert A. Decreased expression of the two D2 dopamine receptor isoforms in bromocriptine-resistant prolactinomas // *Neuroendocrinology*. – 1994. – Vol.60. – P.314–322.
28. Caccavelli L., Morange-Ramos I., Kordon C., Jaquet P., Enjalbert A. Alteration of G alpha subunits mRNA levels in bromocriptine resistant prolactinomas // *J Neuroendocrinol*. – 1996. – Vol.8. – P.737–746.
29. Cannavò S., Bartolone L., Blandino A., Spinella S., Galatioto S., Trimarchi F: Shrinkage of a PRL-secreting pituitary macroadenoma resistant to cabergoline // *J Endocrinol Invest* – 1999. – Vol.22. – P.306–309.
30. Carruan M.P., Perry C.M. Cabergoline: a review of its use in the treatment of Parkinson's disease // *Drugs*. – 2004. – Vol.64, №18. – P.2125-2141.
31. Casanueva F., Molitch M.E., Schlechte J.A., Abs R., Bonert V., Bronstein M.D., Brue T., Cappabianca P., Colao A., Fahlbusch R., Fideleff H., Hadani M., Kelly P., Kleinberg D., Laws E., Marek J., Scanlon M., Sobrinho L.G., Wass J.A., Giustina A. Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2006. – Vol.65, №2. – P.265-73.
32. Chaidarun S.S., Klibanski A., Alexander J.M. Tumor-specific expression of alternatively spliced estrogen receptor messenger ribonucleic acid variants in human pituitary adenomas // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1997. – Vol.82. – P.1058 –1065.
33. Chang E.F., Zada G., Kim S., Lamborn K.R., Quinones-Hinojosa A., Tyrrell J.B., Wilson C.B., Kunwar S. Long-term recurrence and mortality after surgery and adjuvant radiotherapy for nonfunctional pituitary adenomas // *Journal of Neurosurgery*. – 2008. – Vol.108. – P.736-745.
34. Charoenphandhu N., Teerapornpuntakit J., Methawasin M., Wongdee K., Thongchote K., Krishnamra N. Prolactin decreases expression of Runx2, osteoprotegerin, and RANKL in

- primary osteoblasts derived from tibiae of adult female rats // *Can J Physiol Pharmacol.* – 2008. – Vol.86, №5Ю – P.240–248.
35. Ciccarelli A., Daly A.F., Beckers A. The epidemiology of prolactinomas // *Pituitary.* – 2005. – Vol.8, №1. – P.3-6.
  36. Ciresi A., Amato M.C., Guarnotta V., Lo Castro F., Giordano C. Higher doses of cabergoline further improve metabolic parameters in patients with prolactinoma regardless of the degree of reduction in prolactin levels // *Clin Endocrinol.* – 2013. – Vol.79. – P.845–852.
  37. Colao A. Pituitary tumours: the prolactinoma // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol.23, №5. – P.575-596.
  38. Colao A., Di Sarno A., Landi M.L., Scavuzzo F., Cappabianca P., Pivonello R., Volpe R., Di Salle F., Cirillo S., Annunziato L., Lombardi G. Macroprolactinoma shrinkage during cabergoline treatment is greater in naive patients than in patients pretreated with other dopamine agonists: a prospective study in 110 patients // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – Vol.85. – P.2247–2252.
  39. Colao A., Di Sarno A., Sarnacchiaro F., Ferone D., Di Renzo G., Merola B., Annunziato L., Lombardi G. Prolactinomas resistant to standard dopamine agonists respond to chronic cabergoline treatment // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1997. – Vol.82. – P.876–883.
  40. Colao A., Sarno A.D., Cappabianca P., Briganti F., Pivonello R., Somma C.D., Faggiano A., Biondi B., Lombardi G. Gender differences in the prevalence, clinical features and response to cabergoline in hyperprolactinemia // *Eur J Endocrinol.* – 2003. – Vol.148, №3. – P.325-331.
  41. Daly A.F., Tichomirowa M.A., Petrossians P., Heliovaara E., Jaffrain-Rea M.L., Barlier A., Naves L.A., Ebeling T., Karhu A., Raappana A., Cazabat L., De Menis E., Montañana C.F., Raverot G., Weil R.J., Sane T., Maiter D., Neggers S., Yaneva M., Tabarin A., Verrua E., Eloranta E., Murat A., Vierimaa O., Salmela P.I., Emy P., Toledo R.A., Sabatè M.I., Villa C., Popelier M., Salvatori R., Jennings J., Ferrandez Longa's A., Labarta Aizpu'n J.I., Georgitsi M., Paschke R., Ronchi C., Valimaki M., Saloranta C., De Herder W., Cozzi R., Guitelman M., Magri F., Lagonigro M.S., Halaby G., Corman V., Hagelstein M.T., Vanbellinghen J.F., Barra G.B., Gimenez-Roqueplo A.P., Cameron F.J., Borson-Chazot F., Holdaway I., Toledo S.P., Stalla G.K., Spada A., Zacharieva S., Bertherat J., Brue T., Bours V., Chanson P., Aaltonen L.A., Beckers A.. Clinical characteristics and therapeutic responses in patients with germ-line AIP mutations and pituitary adenomas: an International Collaborative Study // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* – 2010, - Vol.95, №10. – E373–E383.
  42. Daly A.F., Vanbellinghen J.F., Khoo S.K., Jaffrain-Rea M.L., Naves L.A., Guitelman M.A., Murat A., Emy P., Gimenez-Roqueplo A.P., Tamburrano G., Raverot G., Barlier A., De Herder W., Penfornis A., Ciccarelli E., Estour B., Lecomte P., Gatta B., Chabre O., Sabatè M.I.,

- Bertagna X., Garcia Basavilbaso N., Stalldecker G., Colao A., Ferolla P., We´meau J.L., Caron P., Sadoul J.L., Oneto A., Archambeaud F., Calender A., Sinilnikova O., Montanˆana C.F., Cavagnini F., Hana V., Solano A., Delettieres D., Luccio-Camelo D.C., Basso A., Rohmer V., Brue T., Bours V., Teh B.T., Beckers A. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein genemutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 2007. – Vol.92. – P.1891–1896.
43. Day F.P. , Glerean M., Lovazzano S., Pietrani M., Christiansen S., Balzaretto M., Kozak A., Carrizo A. Gender differences in macroprolactinomas: study of clinical features, outcome of patients and ki-67 expression in tumor tissue // *Front Horm Res*. – 2010 – Vol.38 – P.50-58.
  44. De Camilli P., Macconi D., Spada A. Dopamine inhibits adenylate cyclase in human prolactin-secreting pituitary adenomas // *Nature*. 1979. – Vol.278. – P.252–254.
  45. De Lellis R.A., Lloyd R.V., Heitz P.U., Eng C. (Eds.). World Health Organization classification of tumours: Tumours of endocrine organs // IARC Press. – Lyons. – 2004.
  46. De Rosa M., Zarrilli S., Di Sarno A., Milano N., Gaccione M., Boggia B., Lombardi G., Colao A. Hyperprolactinemia in men: clinical and biochemical features and response to treatment // *Endocrine*. – 2003. – Vol.20. – P.75-82.
  47. Dekkers O.M., Lagro J., Burman P., Jørgensen J.O., Romijn J.A., Pereira A.M. Recurrence of hyperprolactinemia after withdrawal of dopamine agonists: systematic review and meta-analysis // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2010. – Vol.95, №1. – P.43-51.
  48. Del Dotto P., Bonuccelli U. Clinical pharmacokinetics of cabergoline // *Clin Pharmacokinet*. – 2003. – Vol.42, №7. – P.633-645.
  49. Delgrange E., Daems T., Verhelst J., Abs R., Maiter D. Characterization of resistance to the prolactin-lowering effects of cabergoline in macroprolactinomas: a study in 122 patients // *Eur J Endocrinol*. – 2009. – Vol.160. – P.747–752.
  50. Delgrange E., Duprez T., Maiter D. Influence of parasellar extension of macroprolactinomas defined by magnetic resonance imaging on theirresponsiveness to dopamine agonist therapy // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2006. – Vol.64, №4. – P.456-462.
  51. Delgrange E., Sassolas G., Perrin G., Jan M., Trouillas J. Clinical and histological correlations in prolactinomas, with special reference to bromocriptine resistance // *Acta Neurochir (Wien)*. – 2005. Vol.147. – P.751–758.
  52. Delgrange E., Trouillas J., Maiter D., Donckier J.,Tourniaire J. Sex-related difference in the growth of prolactinomas: a clinical and proliferation marker study // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1997. – Vol.82. – P.2102–2107.
  53. Delgrange E., Vasiljevic A., Wierinckx A., François P., Jouanneau E., Raverot G., Trouillas J. Expression of estrogen receptor alpha is associated with prolactin pituitary tumor prognosis and

- supports the sex-related difference in tumor growth // *Eur J Endocrinol.* – 2015. – Vol.172, №6. – P.791-801.
54. Di Sarno A., Landi M.L., Cappabianca P., Di Salle F., Rossi F.W., Pivonello R., Di Somma C., Faggiano A., Lombardi G., Colao A. Resistance to cabergoline as compared with bromocriptine in hyperprolactinemia: prevalence, clinical definition, and therapeutic strategy // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2001. – Vol.86. – P.5256–5261.
  55. dos Santos Silva C.M., Barbosa F.R., Lima G.A., Warszawski L., Fontes R., Domingues R.C., Gadelha M.R. BMI and metabolic profile in patients with prolactinoma before and after treatment with dopamine agonists // *Obesity* – 2011. – Vol.19. P.800–805.
  56. El-Gharib M.N., Mahfouz A.E., Farahat M.A. Comparison of letrozole versus tamoxifen effects in clomiphene citrate resistant women with polycystic ovarian syndrome // *J Reprod Infertil.* – 2015. – Vol.16, №1. – P.30-35.
  57. Espinosa E., Sosa E., Mendoza V., Ramírez C., Melgar V., Mercado M. Giant prolactinomas: are they really different from ordinary macroprolactinomas? // *Endocrine.* – 2016. – Vol.52, №3. – P.652-659.
  58. Faupel-Badger J.M., Prindiville S.A., Venzon D., Vonderhaar B.K., Zujewski J.A., Eng-Wong J. Effects of raloxifene on circulating prolactin and estradiol levels in premenopausal women at high risk for developing breast cancer // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2006. – Vol.15, №6. – P.1153-1158.
  59. Feng Y., Walsh C.A. The many faces of filamin: a versatile molecular scaffold for cell motility and signaling // *Nature Cell Biol.* – 2004. – Vol.6. – P.1034—1038.
  60. Fernandez A., Karavitaki N., Wass J.A. Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). // *Clinical Endocrinology.* – 2010. – Vol.72, - P.377–382.
  61. Ferrari C., Piscitelli G., Crosignani P.G. Cabergoline: a new drug for the treatment of hyperprolactinaemia // *Hum Reprod.* – 1995. – Vol.10, №7. – P.1647-52.
  62. Filopanti M., Barbieri A.M., Angioni A.R., Colao A., Gasco V., Grottoli S., Peri A., Baglioni S., Fustini M.F., Pigliaru F., Monte P.D., Borretta G., Ambrosi B., Jaffrain-Rea M.L., Gasperi M., Brogioni S., Cannavò S., Mantovani G., Beck-Peccoz P., Lania A., Spada A. Dopamine D2 receptor gene polymorphisms and response to cabergoline therapy in patients with prolactinsecreting pituitary adenomas // *Pharmacogenomics J.* – 2008. – Vol.8. – P.357–363.
  63. Fiorentini C., Guerra N., Facchetti M., Finardi A., Tiberio L., Schiaffonati L., Spano P., Missale C. Nerve growth factor regulates dopamine D(2) receptor expression in prolactinoma cell lines via p75(NGFR)-mediated activation of nuclear factor-kappaB // *Mol Endocrinol.* – 2002. – Vol.16, №2. – P.353-366.

64. Friend K.E., Chiou Y.K., Laws E.R. Jr, Lopes M.B., Shupnik M.A. Pit-1 messenger ribonucleic acid is differentially expressed in human pituitary adenomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1993. – Vol.77. – P.1281–1286.
65. Friend K.E., Chiou Y.K., Lopes M.B.S., Laws Jr E.R., Hughes K.M., Shupnik M.A. Estrogen receptor expression in human pituitary: correlation with immunohistochemistry in normal tissue, and immunohistochemistry and morphology in macroadenomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1994. – Vol.78. – P.1497–1504.
66. Fusco A., Gunz G., Jaquet P., Dufour H., Germanetti A.L., Culler M.D., Barlier A., Saveanu A. Somatostatinergic ligands in dopamine-sensitive and -resistant prolactinomas // *Eur J Endocrinol.* – 2008. Vol.158, №5. – P.595-603.
67. Fusco A., Lugli F., Sacco E., Tilaro L., Bianchi A., Angelini F., Tofani A., Barini A., Lauriola L., Maira G., Pontecorvi A., de Marinis L. Efficacy of the combined cabergoline and octreotide treatment in a case of a dopamine-agonist resistant macroprolactinoma // *Pituitary.* – 2011. Vol.14, №4. – P.351-357.
68. Gauer J., Heberling H.J., Stubert B., Richardt W., Lohmann D. Bromocriptine treatment of hyperprolactinemia // *Z Gesamte Inn Med.* – 1985. – Vol.40, №13. – P.393-396.
69. Gibney J., Smith T.P., McKenna T.J. Clinical relevance of macroprolactin // *Clin Endocrinol.* – 2005. – Vol.62. – P.633–643.
70. Gillam M.P., Molitch M.E., Lombardi G., Colao A: Advances in the treatment of prolactinomas // *Endocr Rev.* – 2006. – Vol.27. – P.485–534.
71. Gorski J., Wendell D., Gregg D., Chun T.Y. Estrogens and the genetic control of tumor growth // *Prog Clin Biol Res.* – 1997. – Vol.396. – P.233–243.
72. Gurlek A., Karavitaki N., Ansorge O., Wass J.A. What are the markers of aggressiveness in prolactinomas? Changes in cell biology, extracellular matrix components, angiogenesis and genetics // *European Journal of Endocrinology.* – 2007. – Vol.156. – P.143–153.
73. Hamilton D.K., Vance M.L., Boulos P.T., Laws E.R. Surgical outcomes in hyporesponsive prolactinomas: analysis of patients with resistance or intolerance to dopamine agonists // *Pituitary* – 2005 – Vol.8 – P.53–60.
74. Hattori N., Ishihara T., Saiki Y. Macroprolactinaemia: prevalence and aetiologies in a large group of hospital workers // *Clin Endocrinol.* – 2009. – Vol.71. – P.702–708.
75. Hofland L.J., Lamberts S.W. Somatostatin receptor subtype expression in human tumors // *Annals of oncology.* – 2001. – Vol.12. – Suppl. 2. – S.31-36.
76. Hofland L.J., Lamberts S.W. Somatostatin receptors in pituitary function, diagnosis and therapy // *Front Horm Res.* – 2004. – Vol.32. – P.235-252.

77. Hofland L.J., van der Hoek J., van Koetsveld P.M., de Herder W.W., Waaijers M., Sprij-Mooij D., Bruns C., Weckbecker G., Feelders R., van der Lely A.J., Beckers A., Lamberts S.W. The novel somatostatin analog SOM230 is a potent inhibitor of hormone release by growth hormone- and prolactin-secreting pituitary adenomas in vitro // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. – Vol.89, №4. – P.1577-1585.
78. Iaccarino C., Samad T.A., Mathis C., Kercret H., Picetti R., Borrelli E. Control of lactotroph proliferation by dopamine: essential role of signaling through D2 receptors and ERKs. // *PNAS.* – 2002. Vol.99. – P.14530–14535.
79. Ilse G., Ryan N., Kovacs K., Ilse D. Calcium deposition in human pituitary adenomas studied by histology, electron microscopy, electron diffraction and X-ray spectrometry // *Exp Pathol.* – 1980. – Vol.18, №7-8. – P.377-88.
80. Inancil S.S., Usluogullari A., Ustu Y., Caner S., Tam A.A., Ersoy R., Cakir B. Effect of Cabergolin on insulin sensitivity, inflammation and carotid intimal thickness in patients with prolactinoma // *Endocrine.* – 2013. – Vol.44. – P.193–199.
81. Ironside J.W. Pituitary gland pathology // *J Clin Pathol.* – 2003. – Vol.56. – P.561–568.
82. Jaquet P., Ouafik L., Saveanu A., Gunz G., Fina F., Dufour H., Culler M.D., Moreau J.P., Enjalbert A. Quantitative and functional expression of somatostatin receptor subtypes in human prolactinomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1999. – Vol.84. – P.3268–3276.
83. Jastania R.A., Alsaad K.O., Al-Shraim M., Kovacs K., Asa S.L. Double adenomas of the pituitary: transcription factors Pit-1, T-pit, and SF-1 identify cytogenesis and differentiation // *Endocr Pathol.* – 2005. – Vol.16. P.187–194.
84. Jezková J., Hána V., Krsek M., Weiss V., Vladyka V., Liscák R., Vymazal J., Pecen L., Marek J. Use of the Leksell gamma knife in the treatment of prolactinoma patients // *Clin Endocrinol.* – 2009. – Vol.70, №5. – P.732–741.
85. Jones M.E., van Leeuwen F.E., Hoogendoorn W.E., Mourits M.J., Hollema H., van Boven H., Press M.F., Bernstein L., Swerdlow A.J. Endometrial cancer survival after breast cancer in relation to tamoxifen treatment: pooled results from three countries // *Breast Cancer Res.* – 2012. – Vol.14, №3. – R91.
86. Kaptain G.J., Simmons N.E., Alden T.D., Lopes M.B., Vance M.L., Laws E.R. Estrogen receptors in prolactinomas: a clinico-pathological study // *Pituitary.* – 1999. – Vol.1, №2. – P.91–98.
87. Karavitaki N., Thanabalasingham G., Shore H.C., et al. Do the limits of serum prolactin in disconnection hyper- prolactinaemia need re-definition? A study of 226 patients with histologically verified non-functioning pituitary macroadenoma // *Clinical Endocrinology.* – 2006. – Vol.65. – P.524-529.

88. Kim K.M., Valenzano K.J., Robinson S.R., Yao W.D., Barak L.S., Caron M.G. Differential regulation of the dopamine D2 and D3 receptors by G protein-coupled receptor kinases and beta-arrestins / *J Biol Chem.* – 2001. Vol.276, №40. P.37409–37414.
89. Kovacs K., Stefaneanu L., Ezzat S., Smyth H. Prolactin-producing pituitary adenoma in a male-to-female transsexual patient with protracted estrogen administration. A morphologic study // *Arch Pathol Lab Med.* – 1994. – Vol.118. – P.562–565.
90. Kukstas L.A., Domec C., Bascles L., Bonnet J., Verrier D., Israel J.M., Vincent J.D. Different expression of the two dopaminergic D2 receptors, D2415 and D2444, in two types of lactotroph each characterised by their response to dopamine, and modification of expression by sex steroids // *Endocrinology.* – 1991. – Vol.129, P.1101–1103.
91. Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Aster J.C. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. 8th ed. // Saunders, an imprint of Elsevier Inc. – Philadelphia, 2010. – p.2127 - 2128.
92. Lamolet B., Pulichino A.M., Lamonerie T., Gauthier Y., Brue T., Enjalbert A., Drouin J. A pituitary cell-restricted T box factor, Tpit, activates POMC transcription in cooperation with Pitx homeoproteins // *Cell.* – 2001. – Vol.104. – P.849–859.
93. Laws E.R., Jane J.A.Jr. Neurosurgical approach to treating pituitary adenomas // *Growth Horm IGF Res.* – 2005. – Vol.15 (Suppl A) – S36-S41.
94. Lee Y., Ku C.R., Kim E., Jae J.H., E.J., Kim S.H. Early Prediction of Long-Term Response to Cabergoline in Patients with Macroprolactinomas // *Endocrinol Metab* – 2014. – Vol.29. – P. 280-292.
95. Li M., Bermak J.C., Wang Z.W., Zhou Q.Y. Modulation of dopamine D(2) receptor signaling by actin-binding protein (ABP-280) // *Mol Pharmacol.* – 2000. Vol.57. P.446–452.
96. Lin R., Karpa K., Kabbani N., Goldman-Rakic P., Levenson R. Dopamine D2 and D3 receptors are linked to the actin cytoskeleton via interaction with filamin A // *Proc Natl Acad Sci.* – 2001. – Vol.98. – P.5258–63.
97. Liu X., Kano H., Kondziolka D., Park K.J., Iyer A., Shin S., Niranjan A., Flickinger J.C., Lunsford L.D. Gamma knife stereotactic radiosurgery for drug resistant or intolerant invasive prolactinomas // *Pituitary.* – 2013. – Vol.16, №1. – P.68-75.
98. LiVolsi V.A., Asa S.L. Endocrine Pathology // Churchill Livingstone. – 2002. – P.370.
99. Ma W., Ikeda H., Yoshimoto T. Clinicopathologic study of 123 cases of prolactin-secreting pituitary adenomas with special reference to multihormone production and clonality of the adenomas // *Cancer.* – 2002. – Vol.95. P.166–258.
100. Mallea-Gil M.S., Cristina C., Perez-Millan M.I., Villafañe A.M., Ballarino C., Stalldecker G., Becu-Villalobos D. Invasive giant prolactinoma with loss of therapeutic response to

- cabergoline: expression of angiogenic markers // *Endocr Pathol.* – 2009. – Vol.20, №1. – P.35-40.
101. Manoranjan B., Salehi F., Scheithauer B.W., Rotondo F., Kovacs K., Cusimano M.D. Estrogen receptors alpha and beta immunohistochemical expression: clinicopathological correlations in pituitary adenomas // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol.30, №7. – P.2897-2904.
  102. Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A., Wass J.A. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2011. – Vol.96, №2. – P.273–288.
  103. Minniti G., Esposito V., Piccirilli M., Fratticci A., Santoro A., Jaffrain-Rea M.L. Diagnosis and management of pituitary tumours in the elderly: a review based on personal experience and evidence of literature // *Eur J Endocrinol.* – 2005. – Vol.153, №6. – P.723-735.
  104. Missale C., Losa M., Sigala S., Balsari A., Giovanelli M., Spano P.F. Nerve growth factor controls proliferation and progression of human prolactinoma cell lines through an autocrine mechanism // *Mol Endocrinol.* – 1996. – Vol.10, №3 – P.272–285.
  105. Molitch M.E. Management of medically refractory prolactinoma // *J Neurooncol.* – 2014. – Vol.117, №3. – P.421-428.
  106. Molitch M.E. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients // *Pituitary.* – 2005. – Vol.8. – P.43–52.
  107. Molitch M.E. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients // *Pituitary.* – 2003. – Vol.6, №1. – P.19-27.
  108. Molitch M.E., Elton R.L., Blackwell R.E., Caldwell B., Chang R.J., Jaffe R., Joplin G., Robbins R.J., Tyson J., Thorner M.O. Bromocriptine as primary therapy for prolactin-secreting macroadenomas: results of a prospective multicenter study // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1985. – Vol.60. – P.698–705.
  109. Morange I., Barlier A., Pellegrini I., Brue T., Enjalbert A., Jaquet P. Prolactinomas resistant to bromocriptine: long-term efficacy of quinagolide and outcome of pregnancy // *Eur J Endocrinol.* – 1996. – Vol.135. – P.413–420.
  110. Mortini P., Losa M., Barzaghi R., Boari N., Giovanelli M. Results of transsphenoidal surgery in a large series of patients with pituitary adenoma // *Neurosurgery.* – 2005. – Vol.56, №6. – P.1222-1233.
  111. Oh M.C., Aghi M.K. Dopamine agonist-resistant prolactinomas // *J Neurosurg.* – 2011. – Vol.114. – P.1369–1379.
  112. Ono M., Miki N., Kawamata T., Makino R., Amano K., Seki T., Kubo O., Hori T., Takano K. Prospective study of high-dose cabergoline treatment of prolactinomas in 150 patients // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2008. – Vol.93. – P.4721–4727.

113. Osamura R.Y., Kajiya H., Takei M., Egashira N., Tobita M., Takekoshi S., Teramoto A. Pathology of the human pituitary adenomas // *Histochem Cell Biol.* – 2008. – Vol.130. – P.495–507.
114. Pala N.A., Laway B.A., Misgar R.A., Dar R.A. Metabolic abnormalities in patients with prolactinoma: response to treatment with cabergoline // *Diabetol Metab Syndr.* – 2015. – Vol. 14. – 7:99.
115. Passos V.Q., Fortes M.A., Giannella-Neto D., Bronstein M.D. Genes differentially expressed in prolactinomas responsive and resistant to dopamine agonists // *Neuroendocrinology.* – 2009. – Vol.89. – P.163–170.
116. Pellegrini I., Rasolonjanahary R., Gunz G., Bertrand P., Delivet S., Jedynak C.P., Kordon C., Peillon F., Jaquet P., Enjalbert A. Resistance to bromocriptine in prolactinomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1989. – Vol.69, №3. – P.500-509.
117. Peverelli E., Mantovani G., Vitali E., Elli F.M., Olgiati L., Ferrero S., Laws E.R., Della Mina P., Villa A., Beck-Peccoz P., Spada A., Lania A.G. Filamin-A is essential for dopamine D2 receptor expression and signaling in tumorous lactotrophs // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol.97, №3. – P.967–977.
118. Peverelli E., Treppiedi D., Giardino E., Vitali E., Lania A.G., Mantovani G. Dopamine and Somatostatin Analogues Resistance of Pituitary Tumors: Focus on Cytoskeleton Involvement // *Front Endocrinol.* – 2015. – Vol.22. – 6:187.
119. Pinchon M.F., Bression D., Peillon F., Milgrom E. Estrogen receptors in human pituitary adenomas // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1980. – Vol.51. – P.897–902.
120. Pollock B.E., Brown P.D., Nippoldt T.B., Young W.F.Jr. Pituitary tumor type affects the chance of biochemical remission after radiosurgery of hormone-secreting pituitary adenomas // *Neurosurgery.* – 2008. – Vol.62. – P.1271–1278.
121. Pugh D.M., Sumano H.S. The Anti-Implantation Action of Tamoxifen in Mice // *Arch Toxicol Suppl.* – 1982. Vol.5. – P.209– 13.
122. Raverot G., Wierinckx A., Dantony E., Auger C., Chapas G., Villeneuve L., Brue T., Figarella-Branger D., Roy P., Jouanneau E., Jan M., Lachuer J., Trouillas J., HYPOPRONOS. Prognostic factors in prolactin pituitary tumors: clinical, histological, and molecular data from a series of 94 patients with a long postoperative follow-up // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* – 2010. – Vol.95. – P.1708–1716.
123. Rilliet B., Mohr G., Robert F., Hardy J. Calcifications in pituitary adenomas // *Surgical Neurology.* – 1981. – Vol.15. – P.249-255.

124. Scheithauer B.W., Gaffey T.A., Lloyd R.V., Sebo T.J., Kovacs K.T., Horvath E., Yapicier O., Young W.F.Jr., Meyer F.B., Kuroki T., Riehle D.L., Laws E.R.Jr. Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas // *Neurosurgery*. – 2006. – Vol.59. – P.341-353.
125. Schlechte J.A. Clinical practice. Prolactinoma // *New England Journal of Medicine*. – 2003. – Vol.349. – P.2035–2041.
126. Schniederjan M. J., Brat D. J. Biopsy interpretation of the central nervous system // Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. – Philadelphia, 2011. – p.182.
127. Scully K.M., Rosenfeld M.G. Pituitary development: regulatory codes in mammalian organogenesis // *Science*. – 2002. Vol.295. – P.2231–2235.
128. Seck T., Baron R., Horne W.C. Binding of filamin to the C-terminal tail of the calcitonin receptor controls recycling // *J Biol Chem*. – 2003. – Vol.278. – P.10408–10416.
129. Sengupta A., Sarkar D.K. Estrogen inhibits D2S receptor-regulated Gi3 and Gs protein interactions to stimulate prolactin production and cell proliferation in lactotropic cells / *J Endocrinol*. – 2012. – Vol.214, №1. – P.67-78.
130. Seriwatanachai D., Thongchote K., Charoenphandhu N: Prolactin directly enhances bone turnover by raising osteoblast-expressed receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoprotegerin ratio // *Bone*. – 2008. – Vol.42, №3. – P.535–546.
131. Serri O., Noiseux D., Robert F., Hardy J. Lactotroph hyperplasia in an estrogen treated male-to-female transsexual patient // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1996. – Vol.81. – P.3177–3179.
132. Shimazu S., Shimatsu A., Yamada S., Inoshita N., Nagamura Y., Usui T., Tsukada T. Resistance to dopamine agonists in prolactinoma is correlated with reduction of dopamine D2 receptor long isoform mRNA levels // *Eur J Endocrinol*. – 2012. – Vol.166, №3. – P.383–390.
133. Shupnik M.A., Pitt L.K., Soh A.Y., Anderson A., Lopes M.B., Laws E.R. Selective Expression of Estrogen Receptor  $\alpha$  and  $\beta$  Isoforms in Human Pituitary Tumors // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1998. – Vol.83, №11. – P.3965-3972.
134. Sigala S., Martocchia A., Missale C., Falaschi P., Spano P. Increased serum concentration of nerve growth factor in patients with microprolactinoma // *Neuropeptides*. – 2004. Vol.38, №1. – P.21-24.
135. Song Y.J., Chen M.T., Lian W., Xing B., Yao Y., Feng M., Wang R.Z. Surgical treatment for male prolactinoma: A retrospective study of 184 cases // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – Vol.96, №2. – e5833.
136. Sosa Ldel V., Gutiérrez S., Petiti J.P., Vaca A.M., De Paul A.L., Torres A.I. Cooperative effect of E<sub>2</sub> and FGF2 on lactotroph proliferation triggered by signaling initiated at the plasma membrane // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2013. – Vol.305, №1. – E41-49.

137. Stefaneanu L., Kovacs K., Horvath E., Buchfelder M., Fahlbusch R., Lancranjan L. Dopamine D2 receptor gene expression in human adenohypophysial adenomas // *Endocrine*. – 2001. – Vol.14. – P.329–336.
138. Stossel T.P., Condeelis J., Cooley L., Hartwig J.H., Noegel A., Schleicher M., Shapiro S.S. Filamins as integrators of cell mechanics and signaling // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2001. – Vol.2. – P.138–145.
139. Takeno A., Yamamoto M., Okazaki K., Yamaguchi T., Toshitsugu S. Successful Improvement of Metabolic Disorders, Including Osteopenia, by a Dopamine Agonist in a Male Patient with Macro-Prolactinoma // *Am J Case Rep*. – 2016. – Vol.17. – P.160-164.
140. Talan-Hranilović J., Gnjidić Z., Sajko T., Vizner B., Vrkljan M. Comparative immunohistochemical analysis of estrogen receptor and chromogranin-A reactivity in plurihormonal human prolactinomas // *Acta Med Croatica*. – 2000. – Vol.54, №2. – P.59-63.
141. Tanaka S., Link M.J., Brown P.D., Stafford S.L., Young W.F.Jr., Pollock B.E. Gamma knife radiosurgery for patients with prolactin-secreting pituitary adenomas // *World Neurosurg*. – 2010. – Vol.74, №1. – P.147-52.
142. Terada T., Kovacs K., Stefaneanu L., Horvath E. Incidence, Pathology, and Recurrence of Pituitary Adenomas: Study of 647 Unselected Surgical Cases // *Endocr Pathol*. – 1995. – Vol.6, №4. P.301-310.
143. Thapar K., Kovacs K., Scheithauer B.W., Stefaneanu L., Horvath E., Pernicone P.J., Murray D., Laws E.R. Jr. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody // *Neurosurgery*. – 1996. – Vol.38. – P.99-107.
144. Thodou E., Kontogeorgos G., Theodossiou D., Pateraki M. Mapping of somatostatin receptor types in GH or/and PRL producing pituitary adenomas // *J Clin Pathol*. – 2006. – Vol.59, №3. – P.274-279.
145. Tirosh A., Shimon I. Current approach to treatments for prolactinomas // *Minerva Endocrinol*. – 2016 – Vol.41, №3. – P.316-323.
146. Turner H.E., Adams C.B., Wass J.A. Trans-sphenoidal surgery for microprolactinoma: an acceptable alternative to dopamine agonists? // *Eur J Endocrinol*. – 1999. – Vol.140, №1. – P43-47.
147. Turner H.E., Harris A.L., Melmed S., Wass J.A.H. Angiogenesis in endocrine tumors // *Endocrine reviews*. – 2003. – Vol.24, №5. – P.600-632.
148. Turner H.E., Nagy Z., Gatter K.C., Esiri M.M., Harris A.L., Wass J.A. Angiogenesis in pituitary adenomas—relationship to endocrine function, treatment and outcome // *J Endocrinol*. – 2000. – Vol.165. – P.475–481.

149. Turner H.E., Nagy Z., Gatter K.C., Esiri M.M., Harris A.L., Wass J.A. Angiogenesis in pituitary adenomas and the normal pituitary gland // *J Clin Endocrinol Metab* – 2000. – Vol.85. – P.1159–1162.
150. Tuzcu A., Bahceci M., Dursun M., Turgut C., Bahceci S. Insulin sensitivity and hyperprolactinemia // *J Endocrinol Invest.* – 2003. – Vol.26. – P.341–346.
151. Tyrrell J.B., Lamborn K.R., Hannegan L.T., Applebury C.B., Wilson C.B. Transsphenoidal microsurgical therapy of prolactinomas: initial outcomes and long-term results // *Neurosurgery.* – 1999. – Vol.44, №2. – P.254-261.
152. Vasilev V., Daly A.F., Vroonen L., Zacharieva S., Beckers A. Resistant prolactinomas // *Journal of Endocrinological Investigation.* – 2011. Vol.34. – P.312–316.
153. Verge`s B., Boureille F., Goudet P., Murat A., Beckers A., Sassolas G., Cougard P., Chambe B., Montvernay C., Calender A. Pituitary disease in MEN type 1 (MEN1): data from the France–Belgium MEN1 multicenter study // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* – 2002. – Vol.87. – P.457–465.
154. Verhelst J., Abs R., Maiter D., van den Bruel A., Vandeweghe M., Velkeniers B., Mockel J., Lamberigts G., Petrossians P., Coremans P., Mahler C., Stevenaert A., Verlooy J., Raftopoulos C., Beckers A. Cabergoline in the treatment of hyperprolactinemia: a study in 455 patients // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1999. Vol.84. – P.2518–2522.
155. Volante M., Brizzi M.P., Faggiano A., La Rosa S., Rapa I., Ferrero A., Mansueto G., Righi L., Garancini S., Capella C., De Rosa G., Dogliotti L., Colao A., Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy // *Mod Pathol.* – 2007. – Vol.20, №11. – P.1172-1182.
156. Völker W., Gehring W.G., von zur Mühlen A., Schneider J. Bromocriptine and tamoxifen - a new therapeutic approach in suppression-resistant prolactin-secreting adenomas // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* – 1982. – Vol.42, №11. – P.790-797.
157. Vroonen L., Jaffrain-Rea M.L., Petrossians P., Tamagno G., Chanson P., Vilar L., Borson-Chazot F., Naves L.A., Brue T., Gatta B., Delemer B., Ciccarelli E., Beck-Peccoz P., Caron P., Daly A.F., Beckers A. Prolactinomas resistant to standard doses of cabergoline: a multicenter study of 92 patients // *European Journal of Endocrinology* – 2012. – Vol.167. – P.651–662.
158. Webster J., Piscitelli G., Polli A., D'Alborton A., Falsetti L., Ferrari C., Fioretti P., Giordano G., L'Hermite M., Ciccarelli E. et al. Dose-dependent suppression of serum prolactin by cabergoline in hyperprolactinaemia: a placebo controlled, double blind, multicentre study. European Multicentre Cabergoline Dose-finding Study Group // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 1992. – Vol.37, №6. – P.534-541.

159. Webster J., Piscitelli G., Polli A., D'Alborton A., Falsetti L., Ferrari C., Fioretti P., Giordano G., L'Hermite M., Ciccarelli E., et al. The efficacy and tolerability of long-term cabergoline therapy in hyperprolactinaemic disorders: an open, uncontrolled, multicentre study. European Multicentre Cabergoline Study Group // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 1993. – Vol.39, №3. P.323-329.
160. Webster J., Piscitelli G., Polli A., Ferrari C.I., Ismail I., Scanlon M.F. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. CabergolineComparative Study Group // *N Engl J Med*. – 1994. - Vol.331, №14. – P.904-909.
161. Whitelaw B.C., Dworakowska D., Thomas N.W., Barazi S., Riordan-Eva P., King A.P., Hampton T., Landau D.B., Lipscomb D., Buchanan C.R., Gilbert J.A., Aylwin S.J. Temozolomid in the management of dopamine agonist-resistant prolactinomas // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2012. – Vol.76, №6. – P.877-886.
162. Wierinckx A., Auger C., Devauchelle P., Reynaud A., Chevallier P., Jan M., Perrin G., Fe`vre-Montange M., Rey C., Figarella-Branger D., Raverot G., Belin M.F., Lachuer J., Trouillas J. A diagnostic marker set for invasion, proliferation, and aggressiveness of prolactin pituitary tumors // *Endocrine-Related Cancer*. – 2007. Vol.14. – P.887–900.
163. Winkelmann J., Pagotto U., Theodoropoulou M., Tatsch K., Saeger W., Mu`ller A., Arzberger T., Schaaf L., Schumann E.M., Trenkwalder C., Stalla G.K. Retention of dopamine 2 receptor mRNA and absence of the protein in craniospinal and extracranial metastasis of a malignant prolactinoma: a case report // *European Journal of Endocrinology*. – 2002. Vol.146. – P.81–88.
164. Wood D.F., Johnston J.M., Johnston D.G. Dopamine, the dopamine D2 receptor and pituitary tumours // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 1991. – Vol.35. – P.455–466.
165. Wu Z.B., Zheng W.M., Su Z.P., Chen Y., Wu J.S., Wang C.D., Lin C., Zeng Y.J., Zhuge Q.C. Expression of D2RmRNA isoforms and ERmRNA isoforms in prolactinomas: correlation with the response to bromocriptine and with tumor biological behavior // *J Neurooncol*. – 2010. – Vol.99, №1. – P.25-32.
166. Zada G., Woodmansee W.W., Ramkissoon S., Amadio J., Nose V., Laws E.R.Jr. Atypical pituitary adenomas: incidence, clinical characteristics, and implications // *J Neurosurg*. – 2011. – Vol.114, №2. – P.336-344.
167. Zadrozna-Sliwka B., Bolanowski M., Kaluzny M., Syrycka J. Bone mineral density and bone turnover in hyperprolactinaemia of various origins // *Endokrynol Pol*. – 2007. – Vol.58, №2. – P.116–122.
168. Zafar M., Ezzat S., Raymyar L., Pan N., Smyth H.S., Asa S.L. Cell-specific expression of estrogen receptor in the human pituitary and its adenomas // *J Clin Endocrinol Metab*. – 1995. – Vol.80. – P.3621–3627.

169. Zhang M., Breitwieser G.E. High affinity interaction with filamin A protects against calcium-sensing receptor degradation // J Biol Chem. – 2005. – Vol.280. – P.11140–11146.
170. Zornitzki T., Knobler H., Nass D., Hadani M., Shimon I. Increased MIB-1/Ki-67 labeling index as a predictor of an aggressive course in a case of prolactinoma // Horm Res. – 2004. – Vol.61. – P.111–116.