

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

*На правах рукописи*

**Шутова Александра Сергеевна**

**Транскриптомные, молекулярно-генетические и фармакодинамические характеристики  
пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза**

3.1.19 Эндокринология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук  
Дзеранова Лариса Константиновна

Москва 2023

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Актуальность.....	5
Цель работы .....	5
Задачи исследования .....	5
Научная новизна .....	5
Практическая значимость .....	6
Личное участие автора в получении научных результатов.....	6
Положения, выносимые на защиту .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	8
1.1.    Пролактин-секретирующие аденомы гипофиза .....	8
1.1.1.    Эпидемиология .....	8
1.1.2.    Клиническая картина в случае наличия пролактин-секретирующих аденом гипофиза .....	9
1.1.3.    Лечебная тактика при пролактин-секретирующих аденомах гипофиза .....	10
1.2.    Концепции резистентности пролактином к медикаментозной терапии .....	10
1.3.    Патогенетические особенности этапов дифференцировки гипофиза в туморогенезе пролактин-секретирующих аденом .....	11
1.4.    Сохранение потенциала дифференцировки стволовых клеток в ткани зрелого гипофиза .....	16
1.5.    Особенности генетического ландшафта пролактином, резистентных к терапии агонистами дофамина.....	16
1.6.    Фармакодинамические особенности пациентов с пролактиномами, резистентными к терапии агонистами дофамина.....	18
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	21
2.1        Дизайн исследования .....	21
2.2        Условия проведения .....	22
2.3        Критерии соответствия .....	22
2.4        Клиническое обследование пациентов.....	24
2.5        Анализ полученных результатов .....	24
2.6        Методы исследования .....	25
2.7        Лабораторные методы исследования .....	25
2.8        Инструментальные методы исследования .....	25
2.9        Методы морфологического исследования .....	26
2.10       Проведение двухэтапной фармакодинамической пробы .....	29

2.11	Методы фармакодинамического исследования.....	31
2.12	Молекулярно-генетическое исследование .....	32
2.13	Методы лечения.....	33
2.14	Статистический анализ .....	35
2.15	Этическая экспертиза .....	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....		36
3.1	Общая характеристика пациентов с пролактин-секретирующими аденомами....	36
3.2	Основные клинические симптомы у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом .....	38
3.3	Обсуждение клинических особенностей пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом .....	42
3.4	Основные лабораторные особенности у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом .....	44
3.5	Обсуждение лабораторных особенностей пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом .....	45
3.6	Морфологические и топографо-анатомические характеристики резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом.....	46
3.7	Обсуждение морфологических и топографо-анатомических характеристик резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом .....	49
3.8	Генетические характеристики резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом. Профили экспрессии генов резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом .....	50
3.8.1	РНК-секвенирование резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом .....	50
3.8.2	Секвенирование единичных клеток резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом.....	57
3.8.3	Анализ обогащения набора генов резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом.....	60
3.9	Обсуждение генетических характеристик резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом .....	61
3.10	Эффективность терапии каберголином у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза .....	63
3.10.1	Вероятность разрешения аменореи у пациенток с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	64
3.10.2	Вероятность разрешения галактореи у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	65

3.10.3	Вероятность восстановления либидо и потенции у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	65
3.10.4	Вероятность разрешения головной боли у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	65
3.10.5	Вероятность разрешения ожирения у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	66
3.10.6	Вероятность восстановления нарушений зрения у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина .....	66
3.10.7	Эффективность терапии каберголином в восстановлении репродуктивной функции у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом.....	67
3.10.8	Эффективность медикаментозной терапии в отношении антипролиферативного эффекта .....	68
3.10.9	Обсуждение эффективности медикаментозной терапии у пациентов с пролактиномами в отношении антипролиферативного эффекта .....	69
3.11	Эффективность оперативного лечения у пациентов с резистентными формами пролактин-секретирующих аденом .....	69
3.11.1	Осложнения оперативного лечения у пациентов с резистентными формами пролактин-секретирующих аденом .....	72
3.12	Построение математической модели логистической регрессии и выполнения ROC-анализа предикторов резистентности пролактином в медикаментозной терапии агонистами дофамина.....	73
3.13	Фармакодинамические особенности пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом и применение «каберголин-гидроксихлорохинового» теста в ранней диагностике резистентности к терапии агонистами дофамина .....	75
3.14	Обсуждение фармакодинамических особенностей пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных и чувствительных к медикаментозной терапии .....	84
3.15	Практическое внедрение: клинические примеры использования пробы для оценки статуса чувствительности к каберголину и определения тактики лечения на основании полученных данных.....	87
3.16	Алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующей аденомой гипофиза	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....		92
ВЫВОДЫ .....		95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....		96

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
------------------------	----

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность**

Пролактиномы - наиболее распространенные гормонально-активные аденомы гипофиза. Основным методом их лечения является медикаментозная терапия агонистами дофамина, которая в большинстве случаев позволяет добиться нормализации уровня пролактина в сыворотке крови и уменьшения размеров аденомы. Однако, около 20% пациентов с пролактиномами неудовлетворительно реагирует даже на высокие дозы агонистов дофамина, что обусловлено резистентностью к терапии [47].

Следует отметить, что на сегодняшний день отсутствуют клинические предикторы резистентности пролактин-секретирующих аденом к медикаментозной терапии, а причины резистентности - предмет научной дискуссии. По имеющимся к настоящему времени литературным данным, проблема нечувствительности пациентов с пролактиномами к терапии не рассматривалась с точки зрения транскриптомных и фармакодинамических изменений.

### **Цель работы**

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

### **Задачи исследования**

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

### **Научная новизна**

Впервые выполнена оценка фармакодинамического профиля пролактин-секретирующих аденом гипофиза, исследованы детерминанты чувствительности и резистентности к медикаментозной терапии, проведен анализ клеточной гетерогенности пролактин-

секретирующих аденом гипофиза и генетических изменений, характерных для резистентных пролактином.

Впервые определен статус чувствительности пролактин-секретирующих аденом гипофиза к терапии с определением персонализированного алгоритма лечения пациентов на раннем этапе диагностики.

### **Практическая значимость**

1. Определение генетических, клеточных и фармакодинамических изменений, характерных для резистентных пролактином, позволяет приблизиться к пониманию общих патогенетических принципов резистентности и способствует решению проблемы нечувствительности пациентов с пролактиномами к терапии.
2. На основании проведенных исследований разработан алгоритм персонализированного ведения пациентов.

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

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

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

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

данным двух методов секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином - *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50*.

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



## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Пролактин-секретирующие аденомы гипофиза

#### 1.1.1. Эпидемиология

Аденомы гипофиза встречаются в 15% случаев внутричерепных неоплазий и составляют около 90% объемных образований гипоталамо-гипофизарной области. В большинстве случаев они являются доброкачественными и имеют моноклональный генез [47]. Однако, аденомы гипофиза могут характеризоваться прогрессирующим увеличением размеров, при этом их экстракsellарное распространение обуславливает возникновение компрессии окружающих структур и развитие масс-эффекта. Аденомы гипофиза представляют собой гетерогенную группу новообразований, отличающихся по секреторному потенциалу, топографо-анатомическим характеристикам и клиническим проявлениям. В соответствии с функциональной активностью различают гормонально-активные, неактивные и так называемые «молчащие» аденомы, способность к гормональной секреции которых определяется только по данным иммуногистохимического (ИГХ) исследования [11]; [110].

По данным различных исследований, распространенность гормонально-активных аденом варьирует от 2 до 9 случаев на 1000 населения. Среди всех гормонально-активных образований гипофиза пролактин-секретирующие аденомы встречаются с наибольшей частотой, составляя около 53% всех новообразований гипоталамо-гипофизарной области [47]. В первую очередь заболеванию подвержены женщины репродуктивного возраста. Так, в группе пациентов моложе 50 лет количество женщин превышает число мужчин в 10 раз. Причина преобладания пролактином у женщин до конца не ясна, учитывая, что распространенность инциденталом гипофиза, по данным аутопсийных исследований, равна у обоих полов [57]; [102]. Считается, что определенную роль в преобладании пролактин-секретирующих аденом у женщин играет меньшая активность системы трансформирующего ростового фактора бета-1 (transforming growth factor- $\beta$ 1 - TGF $\beta$ 1), функция которой – ингибирование пролиферации лактотрофов и секреции пролактина, а также усиление активности дофамина [133]; [134]; [159]; [162]. Также, большая частота пролактином у женщин может быть обусловлена наличием рецепторов эстрогена в гипофизе [58]; [82]. Кроме того, преобладание пролактин-секретирующих аденом ассоциировано с более выраженной клинической симптоматикой у женщин и ранней выявляемостью [2]; [12]; [16]. Однако возможно, что отсроченная диагностика пролактин-секретирующих аденом у мужчин - не единственное объяснение их меньшей встречаемости. У

молодых мужчин также обнаруживаются аденомы более 10 мм, кроме того, пролактиномы у мужчин характеризуются более высоким индексом пролиферативной активности, имеют тенденцию к агрессивному, инвазивному росту, большую частоту рецидива после хирургического лечения, худший ответ на медикаментозную терапию агонистами дофамина [15]; [25]; [77]; [160]; [161]. Необходимо изучение характеристик пролактин-секретирующих аденом, особенно резистентных к терапии, с целью определения потенциальных маркеров, которые можно использовать в лечебных и диагностических целях [19]; [55]; [56]; [59].

#### 1.1.2. Клиническая картина при пролактин-секретирующих аденомах гипофиза

Клиническая картина пролактином складывается из двух составляющих: проявлений гормональной гиперпродукции – синдрома гиперпролактинемии и масс-эффекта опухоли, приводящего к возникновению очаговой неврологической симптоматики и зрительных нарушений, вплоть до слепоты вследствие атрофии зрительного нерва, апоплексии гипофиза.

Наиболее характерные проявления синдрома гиперпролактинемии – различные нарушения репродуктивной системы [3]; [6]; [8]. Пролактин обладает множеством биологических эффектов, оказывая влияние, помимо репродуктивной сферы, на углеводный и липидный обмены, иммунную систему, что обуславливает широкое разнообразие клинических проявлений гиперпролактинемии [4]; [10]. Вне зависимости от причины гиперпролактинемии избыточная секреция пролактина угнетает высвобождение гонадотропин-рилизинг гормона, обеспечивающего секрецию лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов (ФСГ), координирующих овуляцию. В регуляции поступления в кровь гонадотропин-рилизинг гормона важную роль играет кисспептин - нейропептид, синтезируемый в кисспептин-, нейрокинин В- и динорфин-нейронах (kisspeptin, neurokinin B, dynorphin neurons - KNDy) гипоталамуса. Известно, что KNDy нейроны экспрессируют рецепторы пролактина, в связи с чем гиперпролактинемия вызывает снижение синтеза кисспептина этими нейронами, что, в свою очередь, приводит к уменьшению высвобождения гонадотропин-рилизинг гормона и нарушению регуляции репродуктивной системы [27]. У женщин отмечаются галакторея, нарушения менструального цикла (аменорея, олигоменорея, опсоменорея, ановуляторные циклы, недостаточность лютеиновой фазы), бесплодие, снижение либидо. У мужчин проявлениями гиперпролактинемии могут быть снижение или отсутствие либидо и потенции, бесплодие, гинекомастия и галакторея.

Проявлениями масс-эффекта пролактином являются жалобы, связанные с наличием объемного образования – головная боль, нарушение зрения. При супраселлярном росте аденомы гипофиза характерны нарушения зрения по типу битемпоральной гемианопсии. Битемпоральные скотомы диагностируют преимущественно при высоком темпе роста опухоли. При

латероселлярном распространении опухоли и инвазии в кавернозные синусы возможно развитие паралича III, IV, V, VI пар черепных нервов. Клинические проявления этого осложнения – птоз, диплопия, офтальмоплегия, косоглазие, парез глазодвигательных мышц. Аденомы с инфраселлярным ростом провоцируют возникновение ликвореи и увеличивают риск воспалительного процесса в области клиновидной пазухи. В ряде случаев первым клиническим проявлением пролактиномы бывает апоплексия гипофиза. Состояние проявляется внезапной острой головной болью, тошнотой, рвотой, офтальмоплегией, снижением уровня сознания, а также менингеальными симптомами.

### 1.1.3. Лечебная тактика при пролактин-секретирующих аденомах гипофиза

Основной способ лечения пролактином, в отличие от прочих аденом гипофиза, при которых выполняется хирургическое вмешательство, заключается в назначении медикаментозной терапии агонистами дофамина [18]; [22]. Терапия агонистами дофамина в большинстве случаев позволяет достичь антисекреторного и антипролиферативного эффекта в виде нормализации уровня пролактина в сыворотке крови и уменьшения размеров опухоли [31]; [32]; [35]; [54]. Однако, около 20% пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза неудовлетворительно реагируют даже на высокие дозы агонистов дофамина, что обусловлено резистентностью к терапии [52]; [101]. Следствие длительного периода неэффективной медикаментозной терапии - неизбежная прогрессия патологических изменений, вызванных стойкой гиперпролактинемией. Кроме того, отсутствие патогенетического лечения способствует отрицательной динамике размеров и структуры аденомы в виде увеличения ее объема и распространения вне области турецкого седла. Данные изменения ухудшают результаты потенциального хирургического лечения и увеличивают риск как интра-, так и послеоперационных осложнений. Угрожающими жизни осложнениями неэффективного консервативного лечения, требующими проведения безотлагательного хирургического вмешательства, могут быть ликворея и кровоизлияние в опухоль [103].

Выявление этиопатогенетических маркеров нечувствительности пролактином к терапии, использование которых позволит определить оптимальную тактику ведения группы пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина – крайне актуально.

### 1.2. Концепции резистентности пролактином к медикаментозной терапии

Предпринималось множество попыток классифицировать резистентность пролактин-секретирующих аденом к терапии агонистами дофамина. В результате сформировалось понятие резистентности как отсутствия нормализации уровня пролактина сыворотки крови и уменьшения объема аденомы на 50% и более от исходного при приеме максимально переносимых доз агонистов дофамина, но не менее 3 мг каберголина в неделю, на фоне непрерывного

полугодового лечения [9]. Необходимо отметить, что в ряде случаев наблюдается недостаточная эффективность терапии агонистами дофамина – достижение уменьшения размеров опухоли без нормализации уровня пролактина или обратная ситуация – снижение уровня пролактина без уменьшения размеров аденомы, что обуславливает необходимость учета обоих критериев при определении понятия резистентности пролактином к терапии. Полная резистентность проявляется отсутствием какого-либо значимого эффекта от назначения агонистов дофамина как в отношении гормональной секреции, так и объема опухолевой ткани, частичная наблюдается при снижении секреции пролактина без нормализации его уровня или уменьшения размеров аденомы, но менее, чем 50% от исходного [5].

В настоящее время парадигма резистентности к лечению агонистами дофамина включает в себя ряд положений. Резистентные пролактиномы зачастую демонстрируют признаки клинко-морфологической «агрессивности» - обладают большим размером (10 мм и более), плотно гранулированным типом строения, склонностью к инвазивному росту, более высоким уровнем маркера пролиферативной активности Ki-67 [89]; [119]; [123]; [125]. Вклад в резистентность к терапии вносят особенности метаболизма каберголина, в том числе связанные с нарушением его всасывания и печеночной трансформации. Отмечены характерные изменения рецепторного аппарата пролактин-секретирующих аденом, резистентных к терапии: уменьшение количества дофаминовых рецепторов 2 типа (D2 рецепторов), снижение синтеза протеина G, обеспечивающего связывание агонистов дофамина с D2 рецептором, изменение количества эстрогеновых рецепторов (ER $\alpha$ ), нарушение трансмембранной передачи сигнала D2 рецепторов [28]; [29]; [67]; [85]; [96]; [99]; [116].

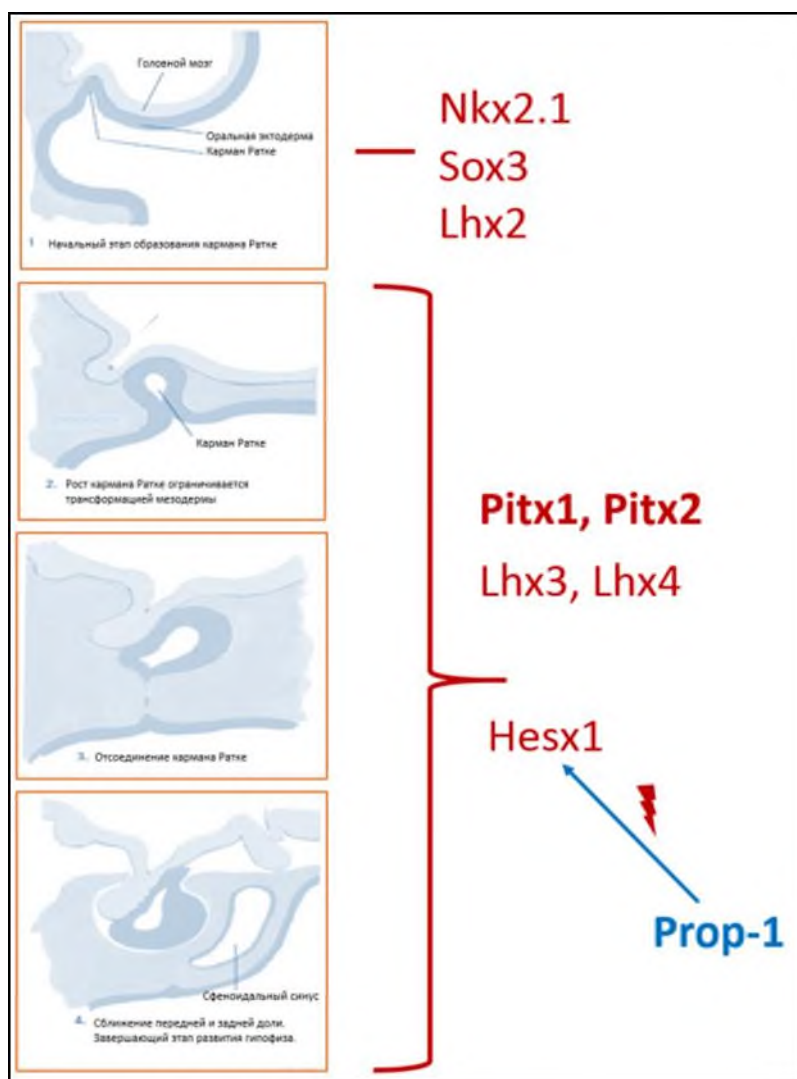
Анализ указанных характеристик возможен только на этапе получения гистологического операционного материала, в связи с чем особую актуальность приобретает поиск методов, которые позволят прогнозировать ответ аденомы на медикаментозное лечение на максимально раннем этапе диагностики. Особое место среди таких методов занимают методики молекулярной визуализации, в частности, транскриптомные исследования.

### 1.3. Патогенетические особенности этапов дифференцировки гипофиза в туморогенезе пролактин-секретирующих аденом

Понимание молекулярно-генетического базиса пролактином невозможно без детального изучения этапов эмбриогенеза и формирования гипофиза. Проллактин-секретирующие аденомы могут возникать вследствие генетических нарушений на одном из этапов развития гипофиза – в процессе эмбриогенеза, на стадии дифференцировки клеточных линий или непосредственно в ткани зрелого органа [65]; [66].

Гипофиз состоит из двух долей – адено- и нейрогипофиза, имеющих принципиально разные источники развития и объединенных исключительно топографической близостью. Аденогипофиз - производное эпителия оральной эктодермы (первичного рта), в то время как задняя доля гипофиза развивается из нейроэпителия промежуточного мозга или нейроэктодермы. Зачаток нейрогипофиза, расширяясь в вентральном направлении, приводит к инвагинации эпителия первичного рта и формированию кармана Ратке (рис.1а, б). Последующее отсоединение этого участка от оральной эктодермы (рис.1в) является отправной точкой формирования аденогипофиза и дифференцировки его клеточных линий (рис.1г) [44].

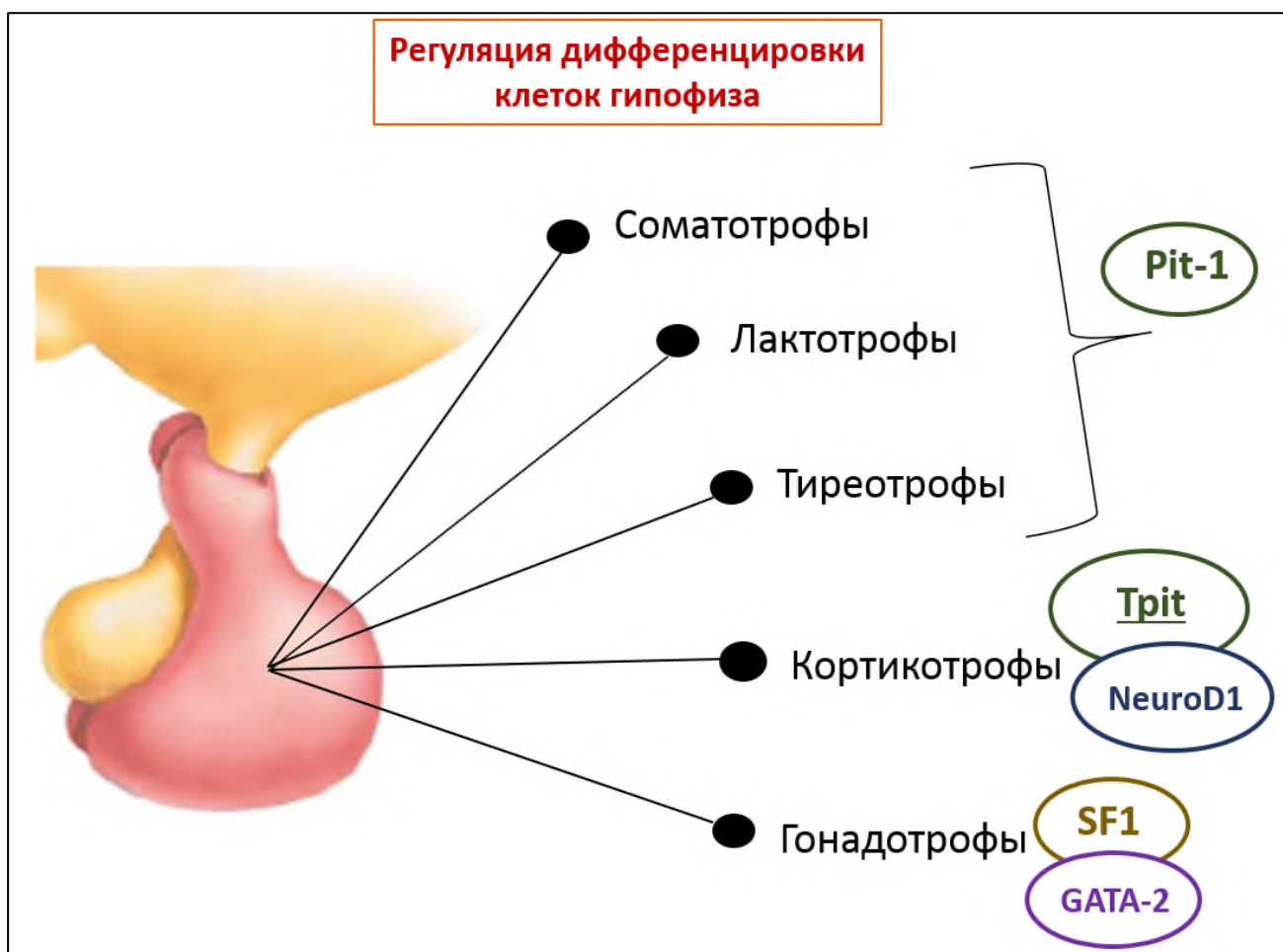
Необходимо отметить, что каждый этап развития гипофиза регулируется определенным транскрипционным фактором или группой факторов. Так, начальный этап эмбриогенеза - сближение нейроэктодермы и эпителия первичного рта находится под регуляторным влиянием факторов транскрипции Nkx2.1, Sox3 и Lhx2 (рис.1а). Следующими в процесс формирования гипофиза вступают транскрипционные факторы семейства Pitx – Pitx1 и Pitx2, а также Lhx3-4 (рис.1б, в), которые способствуют взаимному сближению предшественников обеих долей гипофиза и возникновению кармана Ратке. Появление факторов Hesx1 и Prop-1 завершает этап эмбриогенетического каскада – разрыв связи кармана Ратке с эпителием первичного рта и приобретение автономности передней долей гипофиза (рис.1г) [43]; [44].



**Рисунок 1.** Молекулярно-генетическая регуляция эмбриогенеза гипофиза (адаптировано из «The Netter collection of medical illustrations: Endocrine system, Volume 2, Second Edition»)

Изменение последовательности взаимодействия транскрипционных факторов, их недостаточная или несвоевременная экспрессия приводят к изменениям последовательности генов. Возникшие мутации индуцируют туморогенез посредством различных механизмов: активации протоонкогенов, подавления генов-супрессоров опухолевого роста, нарушения работы белков-регуляторов клеточного цикла [50]; [84]; [90]; [91]; [149]. Впоследствии происходит опухолевая трансформация клетки с приобретением избирательного пролиферативного преимущества и дальнейшей клональной экспансией [63]; [70]; [79]; [107]; [108].

Дифференцировка клеточных линий аденогипофиза происходит под контролем факторов транскрипции, аффилированных к определенному типу клеток (рис.2).



**Рисунок 2.** Регуляция дифференцировки клеточных линий аденогипофиза под воздействием транскрипционных факторов

(Pit-1 – гипофиз-специфичный транскрипционный фактор 1 (pituitary-specific transcription factor 1), Tpit - T-box транскрипционный фактор TBX19 (T-box transcription factor TBX19), GATA-2 - GATA связывающий белок 2 (GATA binding protein 2), SF1 - стероид-специфичный транскрипционный фактор 1(steroidogenic factor 1)).

Наиболее важным фактором транскрипции, в отсутствии которого невозможна дифференцировка лактотрофов, соматотрофов и тиреотрофов, является Pit-1. Нарушения экспрессии этого транскрипционного фактора, возникшие в период дифференцировки клеточных линий гипофиза, могут приводить к формированию пролактин-секретирующей аденомы с моно- или плюригормональным типом секреции (таб.1).

Изменения, приводящие к возникновению клона аденоматозных лактотрофных клеток, могут произойти и в клетках зрелого гипофиза. Пролактиномы, как и другие аденомы гипофиза, сохраняют способность подчиняться действию транскрипционных факторов и ко-факторов. Так, пролактин-секретирующие аденомы регулируются Pit-1 и ER- $\alpha$ , соматотропиномы - Pit-1 и GhRh-R, тиреотропиномы - Pit-1 и GATA-2. Этиологическая общность пролактин-, СТГ- и ТТГ-секретирующих аденом гипофиза и наличие единого транскрипционного фактора - Pit-1

являются причинами образования аденом с сочетанной секрецией (таб. 1). Важно подчеркнуть, что клетки аденогипофиза даже в зрелом состоянии проявляют значительную пластичность, изменяя гормональную активность в соответствии с функциональными потребностями организма. В частности, обратимая трансдифференцировка существует между членами Pit-1 группы: соматотрофы трансформируются в лактотрофы во время беременности или в тиреотрофы в случае гипотиреоза [34]; [64]; [109].

**Таблица 1.** Соответствие типа гормональной активности аденом гипофиза и характерных факторов транскрипции

Опухоль	Транскрипционные факторы	Гормональная активность
Pit-1-позитивные опухоли		
Лактотрофные аденомы		
Редко гранулированные	Pit-1, ER- $\alpha$	ПРЛ, $\alpha$ -субъединица
Плотно гранулированные		ПРЛ
Ацидифильные аденомы из стволовых клеток		ПРЛ, СТГ
Соматотрофные аденомы		
Редко гранулированные	Pit-1	СТГ, слабая экспрессия
Плотно гранулированные		СТГ, $\alpha$ -субъединица
Маммосоматотрофные аденомы	Pit-1, ER- $\alpha$	СТГ, ПРЛ, $\alpha$ -субъединица
Смешанные СТГ-ПРЛ-секретирующие аденомы		
Плюригормональные аденомы, секретирующие СТГ	Pit-1, ER- $\alpha$	СТГ, ПРЛ, $\alpha$ -субъединица, $\beta$ -субъединица ТТГ
Тиреотрофные аденомы		
Тиреотрофные аденомы	Pit-1, GATA-2	$\beta$ -ТТГ, $\alpha$ -субъединица

ПРЛ – пролактин, СТГ – соматотропный гормон, ТТГ – тиреотропный гормон

Тесное взаимодействие клеток аденогипофиза не ограничивается адаптивной дифференцировкой. Показано, что клетки, относящиеся к единой линии развития, формируют клеточные сети трехмерного строения. Установление плотного межклеточного контакта происходит вследствие движения выростов цитоплазмы - цитонем - в направлении соседней



клетки. Трехмерная организация гомотипичных клеток аденогипофиза обеспечивает стремительное изменение секреторной активности в зависимости от актуальных потребностей организма. Координированный ответ всех клеток сети достигается, в том числе, путем изменения интенсивности локального кровотока [80]; [88]. Этот механизм имеет важное значение в контексте рассмотрения патогенеза пролактином: нарушение согласованности передачи сигнала и неадекватное перераспределение кровоснабжения внутри трехмерной системы лактотрофов способствуют приобретению отдельным клеточным пулом пролиферативного преимущества с последующим формированием аденоматозного клона [112]; [113]; [114].

#### 1.4. Сохранение потенциала дифференцировки стволовых клеток в ткани зрелого гипофиза

Интересный результат продемонстрирован в исследовании, посвященном изучению плюригормональных клеток аденогипофиза взрослых людей [14]. В работе выявлена сохраняющаяся ко-экспрессия пролактина, СТГ и ТТГ указанным типом клеток. Полученные данные свидетельствуют, что в аденогипофизе в течение всей жизни сохраняется определенный пул плюригормональных клеток, способных стать источником развития аденом при воздействии пусковых факторов. Подтверждение этому обнаруживается в исследованиях Fauquier T. et al. Авторы подтвердили наличие в ткани зрелого гипофиза стволовых клеток - прогениторов, обладающих потенциалом дифференцировки в большинство гормонально-активных клеточных линий. Важно отметить, что в этих клетках выявлена экспрессия ключевого фактора транскрипции стволовых клеток - эмбриогенетического маркера гипофиза Sox2 [148].

В зрелом органе этот транскрипционный фактор обнаруживается в области расщелины гипофиза, что соотносится с сохранением пула стволовых клеток. Увеличение экспрессии Sox2 в зрелом гипофизе может свидетельствовать о повышении его неопластического потенциала [148].

Необходимо подчеркнуть, что поиск характерных молекулярно-генетических особенностей, установление влияния и определение роли стволовых и клеток-прогениторов в формировании пролактином имеют ключевое значение для прогнозирования пути развития аденомы и ее ответа на различные виды лечения [74]; [117]; [145]; [149]; [167]; [169]; [170].

#### 1.5. Особенности генетического ландшафта пролактином, резистентных к терапии агонистами дофамина

Генетические нарушения, свойственные гормонально-активным аденомам гипофиза, в том числе пролактиномам, в большей степени остаются неизвестными. Небольшая часть аденом имеет четкую генетическую причину и входит в состав одного из синдромов: МЭН-1 - синдрома множественных эндокринных неоплазий 1-го типа (мутация или делеция в гене *MEN1*, находящегося на хромосоме в локусе 11q13), комплекса Карни (мутация в I-а-регуляторной

субъединице гена супрессора протеинкиназы типа А, локализующегося на хромосомах 17q24 и 2p16 (*PRKARIA* ген), семейных изолированных аденом гипофиза – FIPA (мутация в гене *AIP*). Также описаны редкие случаи МЭН-1-подобного синдрома, ассоциированного с пролактиномами, развивающегося вследствие мутации в гене циклинзависимой киназы p21 (ген *CDKN1A*) [13]; [23].

Таким образом, в последние годы накоплены данные о структуре генетических изменений, характерных для пролактин-секретирующих аденом гипофиза. В настоящее время проводится поиск генов, ассоциированных с развитием пролактином, резистентных к терапии агонистами дофамина.

В ходе исследований в значительной части гормонально-активных аденом гипофиза выявлена избыточная экспрессия генов *gsp*, *ccnd1* и *PTTG*, играющих ключевую роль в клеточной трансформации и пролиферации. Изменения последовательности и структурной организации генов, свойственные именно пролактиномам, включают усиление экспрессии таких генов, как *SF3B1*, *RIS1*, *POU1F1*, *POU2F2*, *DNAJB5*, *ANGPT1*, *ELMO1*, *NOTCH3* и *TLE4*, ответственных за кодирование различных факторов транскрипции, ростовых факторов и сигнальных пептидов и подавление генов *TGFBR3*, *ST18*, *DLEU1*, *IGFBP3*, *FZD7* [68]; [69]; [78].

Однако исследования генетической структуры репертуара пролактин-секретирующих аденом гипофиза, резистентных к медикаментозной терапии, к настоящему времени ограничены. Так, имеются данные о некоторых мутациях, ассоциированных с резистентностью пролактином к терапии агонистами дофамина. Исследователи под руководством Ch. Li провели полногеномное секвенирование генома методом whole-genome sequencing (WGS) 21 пациента с пролактиномой, выявив увеличенную частоту мутации гена *SF3B1* [146]. Данный факт впоследствии верифицирован путем проведения полимеразной цепной реакции образцов 227 пролактином. Наличие мутации *SF3B1*<sup>R625H</sup> индуцирует альтернативный сплайсинг гена рецептора эстрогена (Estrogen Related Receptor Gamma gene – ESRRG), обладающего чрезмерной аффинностью к транскрипционному фактору Pit-1, что приводит к увеличению экспрессии гена пролактина. В работе Ch. Li et al. продемонстрировано увеличение секреции пролактина при наличии мутации *SF3B1*<sup>R625H</sup>, а также усиление митотической активности клеток и снижение апоптоза лактотрофов. Проведенное исследование позволяет сделать предположение о важной роли мутации *SF3B1*<sup>R625H</sup> в развитии фармакорезистентности пролактином, а также свидетельствует о ключевом влиянии этого нарушения на клеточный цикл. Кроме того, выполненная работа указывает на возможность определения данной мутации в качестве предиктора ответа на лечение агонистами дофамина и разработки таргетной терапии.

В контексте изучения генетических характеристик резистентных к терапии пролактином отдельного внимания заслуживает исследование под руководством Hua Gao [95]. В ходе работы выявлено 10 вариантов соматических мутаций, отличающихся у резистентных и чувствительных к терапии пациентов. Среди них идентифицирована driver-мутация – гена *PRDM2* и выявлено, что уровни мРНК и белка-продукта *PRDM2* ниже в случаях аденом, резистентных к терапии. Кроме того, показана ассоциация снижения уровня мРНК *PRDM2* с частотой рецидива пролактиномы. Исследователи подчеркивают значимость обнаруженной мутации в формировании резистентности пролактином к терапии, а также предикторную роль в отношении рецидива аденомы. Схематически патогенез возникновения пролактин-секретирующих аденом гипофиза на разных этапах развития органа изображен ниже.



**Рисунок 3.** Патогенез возникновения аденом на разных этапах развития гипофиза

Таким образом, изучение молекулярного профиля пролактин-секретирующих аденом гипофиза необходимо для понимания основных механизмов, лежащих в основе резистентности аденом к терапии и опухолевого патогенеза в целом.

#### 1.6. Фармакодинамические особенности пациентов с пролактиномами, резистентными к терапии агонистами дофамина

Срез зарубежных и отечественных исследований, посвященных изучению фармакодинамических свойств каберголина, представляет собой разрозненные и несистематизированные литературные данные. В ряде исследований предполагается, что резистентность к лечению агонистами дофамина обусловлена отличными от общеизвестного

путями метаболизма каберголина. В частности, исследователи высказывают мнение, что трансформация каберголина у данной группы пациентов происходит с преимущественным формированием метаболитов, не обладающих биологической активностью [111]. Актуальность проблемы резистентности к лечению агонистами дофамина пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза и отсутствие целенаправленных исследований фармакодинамического профиля каберголина подчеркивает необходимость дальнейшего изучения данной проблемы.

В настоящее время в мировой медицинской практике отсутствует единый алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующими аденомами, резистентными к терапии. Известен способ выбора медикаментозной терапии, основывающийся на оценке чувствительности к каберголину, так называемый каберголиновый супрессивный тест [1]. Тест предполагает трехкратное определение уровня каберголина в течение суток после приема 0,5 мг препарата. В качестве дополнительного параметра оценивается уровень пролактина и концентрация каберголина в крови через 48 часов после приема препарата. Однако выполнение данного теста характеризуется определенными недостатками. Протокол его проведения включает малое количество измерений концентрации препарата в крови – только 3 раза в сутки, что затрудняет оценку фармакодинамического профиля пациентов, определение которого позволило бы выявить дефекты всасывания или трансформации препарата с возможностью их последующей коррекции. Кроме того, измерение концентрации каберголина (путем tandemной масс-спектрометрии с использованием метода мониторинга множественных реакций) в данном тесте характеризуется рядом ограничений, важнейшим из которых является высокий порог обнаружения вещества в крови, что снижает достоверность получаемых результатов и ухудшает чувствительность метода. Также известен способ выбора тактики ведения пациентов с резистентными пролактин-секретирующими аденомами гипофиза на основе анализа фармакодинамики каберголина [1]. Способ заключается в изолированном определении концентрации каберголина в сыворотке крови в течение короткого временного отрезка – 240 минут, после приема стандартной дозы препарата (0,5 мг). Анализ реализуется методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Ограничениями указанного способа являются короткий период проведения исследования (4 часа), не соответствующий пролонгированным фармакокинетическим характеристикам каберголина, отсутствие возможности оценки потенциальной эффективности консервативной терапии, сочетанной с другими препаратами, а также невозможность формирования альтернативных подходов к лечению с его помощью.

Известные способы не допускают осуществления динамической оценки содержания

каберголина в сыворотке крови, не позволяют оценить наличие фармакодинамических дефектов на протяжении времени и не обладают достаточной чувствительностью в отношении определения концентрации препарата.

Для полноценного анализа индивидуального фармакодинамического профиля пациента и прогнозирования эффективности медикаментозной терапии до инициации лечения нами разработан способ выбора тактики и персонализации лечения пациентов с пролактиномами, включающий определение статуса чувствительности к агонистам дофамина. С его помощью возможно определение наиболее подходящего для каждого пациента алгоритма лечения, что позволит избежать длительного неэффективного лечения и снизить риск развития осложнений, обусловленных как гиперпролактинемией, так и масс-эффектом опухоли гипофиза.

Таким образом, результаты исследований последних десятилетий демонстрируют ограниченность данных об ультраструктурных особенностях как чувствительных, так и резистентных пролактином и отсутствие предикторов резистентности к медикаментозной терапии. В связи с этим, изучение молекулярно-генетических и фармакодинамических характеристик пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза - крайне актуально. Наиболее ранняя оценка статуса чувствительности пациента к лечению агонистами дофамина с использованием методов молекулярной визуализации и фармакодинамических исследований позволит на начальном этапе лечения определить оптимальную персонализированную тактику ведения пациента, при необходимости провести конверсию в сторону хирургического метода лечения, предотвратить негативные топографо-анатомические изменения аденомы, снизить риск оперативного вмешательства.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Дизайн исследования

В соответствии с поставленной целью и определенными задачами проведено интервенционное, сравнительное, одномоментное исследование, состоящее из двух этапов.

В исследование включено 85 пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, соответствующих критериям включения. Впоследствии часть пациентов была исключена в связи с наличием изначально неочевидных критериев исключения (отказ от продолжения участия в исследовании, беременность)

Первый этап работы включал в себя исследование двух выборок пациентов: в одну выборку включены пациенты с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, чувствительные к терапии агонистами дофамина, другая состояла из пациентов, резистентных к консервативной терапии. Дизайн первого этапа исследования – одномоментный, сплошной. Набор пациентов в группы проводился на основании соответствия критериям включения и при отсутствии критериев исключения. На данном этапе проводилось клиническое обследование пациентов, включавшее физикальное и лабораторные исследования. В обеих группах регистрировались варианты манифестации и течения заболевания, исследовался спектр клинических и лабораторно-инструментальных характеристик, проводился скрининг осложнений, оценивались результаты лечения. На первом этапе исследования у всех пациентов оценивались фармакодинамические характеристики с помощью разработанной пробы. На основании полученных данных формировался наиболее оптимальный для каждого пациента алгоритм лечения (таблица 2).

**Таблица 2.** Дизайн исследования

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

Второй этап работы включал в себя проведение молекулярно - генетического исследования у резистентных и чувствительных к терапии агонистами дофамина пациентов для

оценки характерных генетических особенностей и изучения клеточной гетерогенности опухолей. Дизайн данного этапа исследования определен как одномоментный, включение в группы осуществлялось в соответствии с критериями включения и при отсутствии критериев исключения. Анализ данных включал оценку результатов молекулярной визуализации и их сопоставление с клинико-лабораторными данными.

## **2.2 Условия проведения**

Набор пациентов проводился на базе Государственного научного центра Российской Федерации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, директор - член-корреспондент РАН Н.Г. Мокрышева), в отделении нейроэндокринологии (зав. отделением – к.м.н. Е.Г. Пржиялковская) и на базе Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Генетические исследования проводились в лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.б.н. С.В. Попов). Оперативное лечение проводилось в нейрохирургическом отделении ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отделением – д.м.н. А.Ю. Григорьев). Гормональные исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Л.В. Никанкина). МРТ проводилась в отделении компьютерной и магнитно-резонансной томографии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (руководитель – к.м.н. Н.В. Тарбаева). Морфологические исследования проводились в отделе фундаментальной патоморфологии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отделом – д.м.н., проф. А. Ю. Абросимов). Фармакодинамические исследования проводились в лаборатории метаболомных и протеомных исследований ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.х.н. В.А. Иоутси).

## **2.3 Критерии соответствия**

В исследовании участвовали пациенты с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, находящиеся на стационарном и амбулаторном лечении в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в период с 2021 по 2023 годы.

Для первого этапа работы определены следующие критерии включения:

Для группы пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных к терапии агонистами дофамина:

- Пол: мужчины и женщины.

- Возраст: 18 лет и старше.
- Подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10).
- Наличие критериев резистентности к терапии агонистами дофамина.

Критериями резистентности к терапии считались: отсутствие нормализации уровня пролактина крови и/или отсутствие уменьшения объема аденомы на 50% и более от исходного на фоне приема максимально переносимых доз агонистов дофамина, но не менее 15 мг/сутки бромокriptина или 3 мг/неделю каберголина, в течение не менее 6 месяцев (в соответствии с Клиническими рекомендациями по гиперпролактинемии) [12].

Для группы пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, чувствительных к терапии агонистами дофамина:

- Пол: мужчины и женщины.
- Возраст: 18 лет и старше.
- Подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10).
- Отсутствие критериев резистентности к терапии агонистами дофамина.

Критериями исключения для обеих групп первого этапа работы были беременность, период грудного вскармливания, наличие феномена макропролактинемии.

Формирование выборок первого этапа исследования осуществлялось сплошным способом, включались все наблюдения.

Критериями включения в группу пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина, во втором этапе работы являлись:

- Пол: мужчины и женщины.
- Возраст: 18 лет и старше.
- Подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10).
- Наличие критериев резистентности к терапии агонистами дофамина.
- Проведенное нейрохирургическое вмешательство в объеме аденомэктомии.
- Получение послеоперационного материала аденомы гипофиза в объеме, необходимом для применения методик молекулярной визуализации.

Критериями включения в группу пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, во втором этапе работы являлись:

- Пол: мужчины и женщины.
- Возраст: 18 лет и старше.



- Подтвержденный диагноз пролактин-секретирующей аденомы гипофиза (код E22.1, D35.2 в соответствии с МКБ-10).
- Отсутствие критериев резистентности к терапии агонистами дофамина.
- Проведенное нейрохирургическое вмешательство в объеме аденомэктомии.
- Получение послеоперационного материала аденомы гипофиза в объеме, необходимом для применения методик молекулярной визуализации.

Критериями исключения для обеих групп второго этапа работы были беременность, период грудного вскармливания, наличие феномена макропролактинемии, отсутствие нейрохирургического вмешательства, невозможность получения необходимого объема послеоперационного материала аденомы гипофиза.

Формирование выборок второго этапа исследования осуществлялось сплошным способом, включались все наблюдения.

#### **2.4 Клиническое обследование пациентов**

Всем пациентам с диагностированной гиперпролактинемией проводилось клинико-лабораторное и инструментальное обследование, оценивались варианты и возраст манифестации проявлений, осложнения, методы и результаты лечения.

Схема первичного обследования включала сбор жалоб, анамнеза, измерения антропометрических параметров. В рамках сбора анамнеза уточнялось наличие хронических заболеваний, прием лекарственных препаратов и биодобавок, гинекологический анамнез у женщин. Масса тела измерялась в легкой комнатной одежде с помощью медицинских весов с точностью до 100 г, рост измерялся с помощью настенного стадиометра с точностью до сантиметра. ИМТ рассчитывался как отношение массы тела (кг) к возведенному в квадрат росту (м).

#### **2.5 Анализ полученных результатов**

Данный этап включал определение клинических вариантов течения заболевания, оценку данных лабораторных и инструментальных методов обследования, анализ фармакодинамических данных пробы, сопоставление результатов молекулярно-генетического и фармакодинамического исследования с клиническими данными. Оценена возможность применения использованных молекулярно-генетических и фармакодинамических методов исследования для максимально раннего определения статуса чувствительности пациента к терапии, определения целесообразности интенсификации медикаментозной терапии, разработан алгоритм обследования и персонализированного лечения.

## **2.6 Методы исследования**

Все медицинские вмешательства у пациентов, включенных в исследование, проводились в рамках рутинной клинической практики в соответствии с российскими и международными стандартами и строго при наличии показаний у каждого пациента.

Обследование пациентов включало в себя опрос с целью изучения анамнеза заболевания, анамнеза жизни и семейного анамнеза, осмотр, соответствующий алгоритму пропедевтического системного обследования, измерение показателей роста, лабораторные исследования (оценка гормональных показателей крови), инструментальные методики, в первую очередь – МРТ головного мозга. Всем пациентам проведена специфическая проба для оценки индивидуальных фармакодинамических характеристик. Применены методики молекулярной визуализации по данным послеоперационного материала с целью изучения молекулярно-генетических и транскриптомных особенностей. Всеми пациентами подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

## **2.7 Лабораторные методы исследования**

Лабораторные исследования проводились в клинко-диагностической лаборатории ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Л.В. Никанкина).

Определение концентраций гормонов в сыворотке крови (пролактин общий, пролактин биоактивный) выполнялось иммунохемилюминесцентным методом на автоматизированной системе Vitros 3600 (Johnson & Johnson, США). Определение содержания биологически активного мономерного пролактина проводилось с использованием преципитации с полиэтиленгликолем (ПЭГ- преципитации) (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария).

Референсные интервалы, используемые в клинко-диагностической лаборатории ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России:

- пролактин сыворотки крови 94-500 мЕд/л;
- пролактин биоактивный сыворотки крови 64-365 мЕд/л.

## **2.8 Инструментальные методы исследования**

Лучевые методы исследования осуществлялись на базе отделения компьютерной и магнитно-резонансной томографии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством к.м.н. Н.В. Тарбаевой.

Пациентам проводилась оценка зрительной функции, включающая осмотр глазного дна, анализ состояния диска зрительного нерва, определение остроты зрения, измерение внутриглазного давления и компьютерную периметрию для оценки наличия или отсутствия нарушений полей зрения. Указанные методы исследования осуществлялись на базе лечебно-

диагностического отделения диабетической ретинопатии и офтальмохирургии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Д.В. Липатова.

#### Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга

МР-исследование головного мозга выполнено на магнитно-резонансном томографе General Electric 450 W 1,5 Тл. Для топической диагностики проводилась МРТ головного мозга с контрастным усилением (гадолиний), исследования проводились на высокопольном аппарате МРТ мощностью 1,5 Тесла. МРТ проводилась всем пациентам при отсутствии противопоказаний.

При распределении пролактин-секретирующих аденом по размеру использована классификацию аденом гипофиза J. Hardy (1970г) в модификации С. Wilson (1979г) [33, 176]:

Расположение опухоли:

- 1) размер опухоли менее 10 мм – микроаденома гипофиза;
- 2) опухоль более 10 мм – макроаденома гипофиза.

Объем аденомы рассчитывался по формуле G. Di-Chiro и K. B. Nelson:  $V = 0,5 \times L \times W \times T$ , где L – высота аденомы в см, W – ширина в см, T – передне-задний размер (толщина) в см.

По данным МРТ исследований также оценивались размер, структура аденом, направление распространения опухоли по отношению к турецкому седлу и инвазивность роста в соответствии с классификацией KNOSP. Данная система широко используется для классификации аденом гипофиза, позволяя оценить инвазию в кавернозные синусы, стратифицировать предстоящие топографические изменения опухоли и проанализировать прогноз радикальности оперативного лечения. Согласно KNOSP Grade 0 соответствуют интраселлярно расположенные опухоли без инвазии в полость кавернозного синуса. При Grade 1 опухоли прорастают до интракаротидной линии. При Grade 2 опухоли распространяются до уровня латерального края внутренней сонной артерии. Прорастание опухоли латеральной каротидной линии соответствует Grade 3. При дальнейшем распространении и полном окружении внутренней сонной артерии опухолью состояние расценивали как Grade 4. Под инвазивным характером роста аденомы гипофиза подразумевается Knosp Grade 3–4.

## **2.9 Методы морфологического исследования**

Материал удаленной аденомы гипофиза отправляли на гистологическое исследование в отдел фундаментальной патоморфологии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (заведующий отделом – д.м.н., профессор А.Ю. Абросимов) для морфологического анализа, включавшего гистологический и ИГХ методы.

Послеоперационный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине (+буфер) 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, после чего исследовали при помощи светового микроскопа. Оценивались следующие характеристики опухолей: тинкториальные свойства (оксифильная, базофильная, хромофобная, смешанная), структура (солидная, трабекулярная, смешанная), наличие кровоизлияния, очагов некроза, фиброза, фигур митоза.

Непрямое иммуногистохимическое исследование выполнено на послеоперационном материале с антителами к тропным гормонам (пролактин, СТГ, ЛГ, ФСГ, ТТГ, АКТГ), к рецепторам (D2-рецепторы, CCR2, CCR5, ЭР $\alpha$ ), маркеру клеточной пролиферации Ki-67, маркеру ангиогенеза CD34. Характеристика первичных антител приведена в таблице 3.

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 3.** Характеристика первичных антител, использованных для иммуногистохимического исследования

Название	Характеристика	Фирма производитель	Разведение	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	NovoCastr	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-ЭР $\alpha$	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, Д2-рецепторов – в цитоплазме и на мембране опухолевых клеток, Ki-67, ER $\alpha$  – 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 пролактин – 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 [56]. ИГХ реакцию на D2-рецепторы считали положительной при окраске более 30% опухолевых клеток в 10 полях зрения при увеличении микроскопа x40. 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.

## **2.10 Проведение двухэтапной фармакодинамической пробы**

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

Протокол пробы включает 2 последовательных этапа. В ходе пробы пациент должен соблюдать обычную физическую активность и придерживаться привычного режима питания. Первое взятие крови осуществляется натощак. Предварительно отменяется прием каберголина минимум за 4 дня. Срок отмены препарата определен в соответствии с двумя факторами: максимальным периодом полувыведения препарата, составляющим 109 ч и безопасностью отмены терапии для пациента. Затем начинается первый этап пробы. Выполняется последовательный забор крови из локтевой вены (алгоритм представлен в ГОСТ Р 52623.4-2015 Технологии выполнения простых медицинских услуг инвазивных вмешательств) по схеме: до приема препарата, затем через 30-, 60-, 90-, 120 минут и 4-, 12-, 24 часа после приема фиксированной дозы каберголина – 0,5 мг. Забор крови проводится в вакуумные пробирки для исследования сыворотки с гелем и активатором свертывания. Кровь центрифугируется сразу после забора при скорости 6000 оборотов в минуту в течение 30 минут в холодовой центрифуге при температуре 4°C, далее сепарированная плазма разливалась на аликвоты в пробирки по 1,5 мл и хранилась при температуре -40°C. В образцах, полученных в каждой из диагностических точек, проводилось измерение содержания каберголина в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЖХМС/МС). Также определялся уровень пролактина в сыворотке крови в образцах, взятых до приема каберголина и через 24 часа после приема препарата. Измерение уровня пролактина проводилось

иммунохемилюминесцентным методом на автоматизированной системе Vitros 3600 (Johnson & Johnson, США), содержание биологически активного мономерного пролактина осуществлялось с помощью ПЭГ-преципитации (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария).

Точка исследования	0'		30'	60'	90'	120'	4 ч	12 ч	24 ч
<b>Забор крови для определения концентрации каберголина</b>		<b>Прием 0,5 мг (1 таблетка) каберголина</b>							
<b>Забор крови для определения концентрации пролактина</b>									

**Рисунок 4.** Графическое представление протокола фармакодинамической пробы

Существует препарат, способный усиливать антисекреторный и антипролиферативный эффекты каберголина при совместном применении - гидроксихлорохин. Гидроксихлорохин использовался для лечения малярии со времен Второй мировой войны, а также для лечения некоторых аутоиммунных заболеваний. Недавние исследования показали, что гидроксихлорохин также может вызывать прекращение роста и апоптоз в клетках злокачественных опухолей, а также повышать их чувствительность к химиотерапии. Проведено несколько клинических испытаний по использованию гидроксихлорохина в качестве адъювантной терапии в сочетании с традиционной химио- и лучевой терапией, по данным которых получены многообещающие результаты [76].

В случае пролактин-секретирующих аденом гипофиза механизм антисекреторного и антипролиферативного эффекта комбинированной терапии (каберголин и гидроксихлорохин) продемонстрирован в 2017 году *in vitro* группой авторов под руководством Shao Jian Lin [76]. Он заключается в конкордатном действии обоих медикаментозных агентов в отношении ключевых факторов клеточного апоптоза – белка p62 и фермента каспазы 8 (caspase 8). Изолированный прием каберголина приводит к незамедлительному увеличению внутриклеточной аккумуляции p62 – основного белка, регулирующего процессы аутофагоцитоза, способствующего росту и пролиферации жизнеспособных клеток внутри популяции – с последующим снижением его содержания в клетке в течение 24 часов. Напротив, комбинация каберголина и гидроксихлорохина приводит к повышению и дальнейшей персистенции высокой концентрации p62 внутри клеток на протяжении 72 часов, что обуславливает накопление и активацию каспазы 8 и реализацию процесса апоптоза клеток.

В 2022 году Shao Jian Lin и соавторы подтвердили результаты, полученные ими в 2017

году *in vivo* и продемонстрировали эффективность совместного приема каберголина и гидроксихлорохина в условиях реальной клинической практики у пациента с пролактиномой, резистентного к терапии агонистами дофамина. На фоне инициации комбинированной терапии впервые за время болезни пациента достигнута нормализация уровня пролактина в сыворотке крови и нивелирование патологических проявлений гиперпролактинемии, эффекты сохранялись на всем протяжении применения комбинированной терапии.

Для персонализации терапии и оценки терапевтического потенциала в условиях реальной клинической практики комбинированной медикаментозной терапии (каберголин+гидроксихлорохин) нами разработан второй этап диагностической пробы. По прошествии 24 часов после приема каберголина (завершение первого этапа пробы) осуществляется пероральный прием стандартной дозы гидроксихлорохина – 200 мг, дважды в течение двух суток (в связи с коротким периодом  $T_{max}$  гидроксихлорохина – 1,83 ч). После этого повторно проводилась проба с каберголином в соответствии с вышеописанным протоколом.

По данным исследований  $C_{max}$  каберголина относительно невелика и составляет всего несколько десятков пг/мл (30 - 70 пг/мл при однократном приеме в дозе 0,5 – 1,5 мг), что диктует необходимость использования высокочувствительного метода обнаружения для получения достоверных результатов. Это требование выполнимо в рамках описанного способа. Используемый метод обладает высокой чувствительностью, обусловленной возможностью обнаружения крайне низких концентраций каберголина в крови (порог чувствительности – 2 пг/мл).

Кроме того, многократная динамическая оценка содержания каберголина в сыворотке крови с формированием суточной кривой позволяет оценить наличие фармакодинамических дефектов в любой из зарегистрированных промежутков времени.

Измерение концентрации каберголина в сыворотке крови в ходе пробы проводилось с использованием метода высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХМС/МС).

## **2.11 Методы фармакодинамического исследования**

Фармакодинамические исследования выполнены в лаборатории метаболомных и протеомных исследований ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.х.н. В.А. Иоутси).

Для установления детерминант лучшего ответа на терапию необходимо использование чувствительных аналитических методик, позволяющих определять содержание каберголина на уровне нескольких десятков пг в мл. В настоящее время используются радиоиммунные,



электрохимические и методы высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием [21]. Последние, хотя и не лишены недостатков, обладают наименьшими ограничениями и самыми широкими возможностями, что делает приоритетным их использование. Пробоподготовка чаще всего включает в себя осаждение белков и жидкостно-жидкостную экстракцию. В нашей работе использована гомогенная жидкостная микроэкстракция с высаливанием экстрагента с последующей оценкой концентрации каберголина в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии. С недавнего времени данный метод широко используется в аналитической практике, особенно в анализе биологических объектов, ввиду простоты реализации, высоких скорости и степени извлечения. Согласно результатам исследований, проведенных лабораторией метаболомных исследований под руководством к.х.н. Иоутси В.А., показано, что предел количественного обнаружения каберголина с использованием данного подхода составляет 2 пг/мл для 200 мкл сыворотки крови.

## **2.12 Молекулярно-генетическое исследование**

Генетические исследования проводились в лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.б.н. С.В. Попов).

Забор крови производился из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК извлекали роботизированной станцией Allsheng Autopure-96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., China) из периферической крови с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови NucleoMag Blood (MN). Выделенную ДНК качественно и количественно анализировали с помощью спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) и набора Qubit dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) соответственно.

Профили экспрессии генов определялись с помощью кэп-анализа экспрессии генов (cap analysis gene expression, CAGE), позволяющего провести одновременную оценку специфических для ткани условий транскрипционных стартовых сайтов, включая данные о задействованных промоторах. Метод включал получение и прочтение коротких (длина 27 нуклеотидов) участков последовательности 5'-конца экпированных РНК эукариот. Далее проводилось картирование секвенированных последовательностей на референсный геном, что позволило уточнить 5'-границы транскрибируемых областей, а также провести количественный анализ экспрессии. Метод позволяет выявить существование альтернативно регулируемых сайтов начала транскрипции и предсказывать сайты связывания факторов транскрипции.

Секвенирование производили со средней глубиной покрытия от 70х, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10х – не менее 97%.

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по известным транскриптам каждого гена. Статистическая значимость разницы экспрессии между группами чувствительных и резистентных пролактином представлена false discovery rate (FDR), рассчитанном на интегрированной базе данных. Для оценки аналогичных показателей экспрессии генов между двумя методами секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином использован порог FDR <0,22. При построении иерархической кластеризации на тепловых картах профилей экспрессии генов в качестве меры расстояния принято евклидово расстояние.

### **2.13 Методы лечения**

В лечении пролактин-секретирующих аденом гипофиза выделяют 3 основных метода: медикаментозный, хирургический и лучевой [92]; [132]; [147]. Приоритетным методом в настоящее время является медикаментозная терапия агонистами дофамина. На территории Российской Федерации зарегистрированы следующие агонисты дофамина:

- 1) каберголин – эрголиновый селективный агонист D<sub>2</sub> дофаминовых рецепторов;
- 2) бромокриптин – эрголиновый неселективный агонист дофаминовых рецепторов;
- 3) хинаголид – неэрголиновый селективный агонист D<sub>2</sub> дофаминовых рецепторов.

В лечении пролактин-секретирующих аденом первой линией терапии выступают эрголиновые агонисты D<sub>2</sub> дофаминовых рецепторов [24]; [33]; [53]. По солидарному мнению российских и зарубежных экспертов препаратом выбора считается каберголин, как наиболее эффективный в отношении нормализации уровня пролактина в сыворотке крови и уменьшения размеров опухоли [7]; [73]. Неудовлетворительный клинический ответ пациентов с пролактиномами на терапию агонистами дофамина обусловлен резистентностью к терапии, требующей разработки персонализированного подхода к тактике лечения конкретного пациента [120]; [121]; [122]; [124]; [127].

К настоящему времени предпринималось множество попыток классифицировать резистентность к терапии агонистами дофамина. Результатом стало формирование концепции резистентности как отсутствия нормализации уровня пролактина крови и (допустимо или) отсутствия уменьшения объема аденомы на 50% и более от исходного - на фоне приема максимально переносимых доз агонистов дофамина, но не менее 3 мг каберголина в неделю.

Лечение при этом должно продолжаться без перерывов на протяжении шести или более месяцев.

Необходимо отметить, что в ряде случаев наблюдается разнонаправленный эффект терапии агонистами дофамина – достижение уменьшения размеров опухоли без нормализации уровня пролактина или обратная ситуация – снижение уровня пролактина без уменьшения размеров аденомы [98]; [106]; [118]; [128]. Данная дискордантность обуславливает необходимость учета обоих критериев при определении понятия резистентности пролактином к терапии.

Полная резистентность проявляется отсутствием какого-либо значимого эффекта от назначения агонистов дофамина и удовлетворении обоим критериям, частичная наблюдается при снижении секреции пролактина без нормализации его уровня или уменьшения размеров аденомы, но менее, чем 50% от исходного. Резистентность к агонистам дофамина встречается у пациентов с микро- и макропролактиномой примерно в 5% и 20% соответственно. Как правило, резистентные пролактиномы чаще встречаются у мужчин [158]; [165].

Все пациенты, включенные в исследование, получали каберголин в качестве первичного лечения. Доза препарата подбиралась индивидуально, под контролем уровня пролактина в сыворотке крови с кратностью 1 раз в месяц. Длительный период полувыведения позволяет применять каберголин с кратностью 1 - 2 раза в неделю, стартовая доза у пациентов нашего исследования составляла 0,25 - 0,5 мг 1 раз в неделю, при необходимости интенсификации терапии повышение дозы проводилось на 0,25 мг ежемесячно. Оптимальной считалась минимальная доза, на фоне приема которой нормализовался уровень пролактина в крови и регрессировали клинические симптомы, при условии хорошей переносимости.

В случаях резистентности к терапии агонистами дофамина, масс-эффекта пролактин-секретирующей аденомы гипофиза, продолжающемся увеличении размеров аденомы пациентам проводилось нейрохирургическое лечение в объеме трансфеноидальной аденомэктомии.

Оперативное вмешательство с целью удаления опухоли гипофиза выполнялось на базе нейрохирургического отделения ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России под руководством д.м.н. Григорьева А.Ю., хирургическое лечение проводилось врачами-нейрохирургами одной операционной бригады.

При возникновении рецидива или продолженного роста аденомы гипофиза части пациентам после оперативного вмешательства проводилось лучевое лечение.

## **2.14 Статистический анализ**

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

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

Корреляционный анализ количественных параметров проводился с помощью метода Спирмена.

Пороговым уровнем статистической значимости  $p$  считали 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости на определенное количество гипотез. Рассчитанные уровни значимости приведены в комментариях к таблицам с результатами.

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

## **2.15 Этическая экспертиза**

Локальным этическим комитетом ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу №24 Заседания локального этического комитета от 24.11.2021 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отделения нейроэндокринологии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Общая характеристика пациентов с пролактин-секретирующими аденомами

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

Клиническая характеристика всех пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 4.

Пациенты разделены на 2 группы исходя из статуса чувствительности к каберголину. В состав группы пациентов, чувствительных к терапии, вошло 28 человек (14 женщин – 50% и 14 мужчин – 50%), группа пациентов, резистентных к терапии каберголином, включала 30 человек (18 женщин – 60%, 12 мужчин – 40%). Группы были сопоставимы по полу и возрасту и ожидаемо отличались по показателям гормонального статуса. Гендерное соотношение в группах пациентов значимо не отличалось, таким образом пол пациента не был ассоциирован со статусом чувствительности к каберголину ( $p=0,444$ ).

Медиана возраста чувствительных пациентов на момент установления диагноза составила 35 лет [24,5; 45,5]. При этом отмечено, что в группе резистентности к терапии пациенты были значимо моложе, их возраст составил 26 лет [20; 33] ( $p=0,020$ ).

В группе резистентных пациентов в 40% ( $n=12$ ) случаев проводилась исключительно консервативная терапия агонистами дофамина, в 60% случаев ( $n=18$ ) кроме консервативной терапии проводилось хирургическое лечение в объеме трансназальной трансфеноидальной аденомэктомии.

В группе пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, только консервативная терапия имела место в 93% ( $n=26$ ), сочетанное консервативное и хирургическое лечение – в 7% случаев ( $n=2$ ).

Продemonстрировано, что оперативное вмешательство статистически значимо чаще проводилось в группе пациентов, резистентных к терапии ( $p=0,001$ ), 60% против 7%, было обусловлено отсутствием эффекта от терапии агонистами дофамина и увеличением размеров пролактин-секретирующей аденомы гипофиза. В группе чувствительных к терапии пациентов необходимость хирургического вмешательства была связана с масс-эффектом аденомы гипофиза.

При сопоставлении индекса массы тела более высокий показатель наблюдался в группе пациентов, резистентных к терапии - 30,35 кг/м<sup>2</sup> [21; 32], по сравнению с чувствительными к терапии агонистами дофамина пациентами - 27,4 кг/м<sup>2</sup> [24; 33] ( $p=0,469$ ).

**Таблица 4.** Сравнение группы чувствительных и группы резистентных пациентов по первичным признакам

Признак		Чувствительность		Резистентность		p
		N	Me [Q1; Q3] / n (%)	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	
Возраст постановки диагноза, лет		28	35 [24,5; 45,5]	30	26 [20; 33]	0,020 <sup>1</sup>
Пол	Муж	28	14 (50%)	30	12 (40%)	0,444 <sup>2</sup>
	Жен		14 (50%)		18 (60%)	
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>		28	27,4 [23,8; 33,3]	30	30,35 [21,0; 32,0]	0,469 <sup>1</sup>
Первый признак аменорея	Нет	14	0 (0%)	17	0 (0%)	1,000 <sup>3</sup>
	Да		12 (86%)		16 (94%)	
	Менопауза		2 (14%)		1 (6%)	
Первый признак увеличение массы тела	Нет	28	8 (29%)	30	14 (47%)	0,156 <sup>2</sup>
	Да		20 (71%)		16 (53%)	
Первый признак гинекомастия	Нет	28	20 (71%)	30	18 (60%)	0,360 <sup>2</sup>
	Да		8 (29%)		12 (40%)	
Первый признак галакторея	Нет	28	12 (43%)	30	11 (37%)	0,630 <sup>2</sup>
	Да		16 (57%)		19 (63%)	
Тяжесть галактореи	I степень	16	6 (37,5%)	19	10 (53%)	0,310 <sup>3</sup>
	II степень		10 (62,5%)		8 (42%)	
	III степень		0 (0%)		1 (5%)	
Первый признак снижение либидо и потенции	Нет	28	6 (21%)	30	1 (3%)	0,087 <sup>4</sup>
	Да		22 (79%)		29 (97%)	
Первый признак головная боль	Нет	28	0 (0%)	30	5 (17%)	0,073 <sup>4</sup>
	Да		28 (100%)		25 (83%)	
Первый признак ухудшение зрения	Нет	28	20 (71%)	30	9 (30%)	0,002 <sup>2</sup>
	Да		8 (29%)		21 (70%)	
Характер ухудшения зрения	Битемпоральное сужение	8	4 (50%)	21	13 (62%)	0,003 <sup>3</sup>
	Концентрическое сужение		0 (0%)		8 (38%)	
	Двоение		0 (0%)		0 (0%)	
	Косоглазие		0 (0%)		0 (0%)	
	Птоз		0 (0%)		0 (0%)	
	Битемпоральное сужение и двоение		2 (25%)		0 (0%)	
	Битемпоральное сужение,		2 (25%)		0 (0%)	

	двоение, косоглазие, ПТОЗ					
<b>ПРЛ в дебюте, мЕд/л</b>		28	20570 [3747; 94340]	30	10755 [5500; 21000]	0,159 <sup>1</sup>
<b>ПРЛ на фоне медикаментозной терапии, мЕд/л</b>		28	424,5 [300; 1009]	30	6350 [2100; 16000]	0,001 <sup>1</sup>
<b>Оперативное лечение</b>	Нет	28	26 (93%)	30	12 (40%)	<0,001 <sup>4</sup>
	Да		2 (7%)		18 (60%)	

ПРЛ - пролактин

Поправка Бонферрони  $p=0,05/15=0,003$

1 – U-test

2 – хи-квадрат

3 – Точный критерий Фишера

4 – хи-квадрат с поправкой Йетса

### 3.2 Основные клинические симптомы у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом

В число наиболее распространенных клинических проявлений у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, как чувствительных, так и резистентных к лечению агонистами дофамина, входили снижение либидо и потенции, метаболические нарушения, в том числе – увеличение массы тела, головная боль и ухудшение зрения. В обеих группах, вне зависимости от статуса чувствительности к агонистам дофамина, в подавляющем большинстве случаев пациенты имели головную боль – 100 % (n=28) в случае чувствительности к терапии и 83% (n=25) в случае резистентности к терапии ( $p=0,073$ ), а также снижение либидо и потенции - 79% (n=22) в случае чувствительности к терапии, 97% (n=29) в случае резистентности к терапии ( $p=0,087$ ). Более, чем в половине всех случаев наблюдалось увеличение массы тела - 71% (n=20) в случае чувствительности и 53% (n=16) в случае резистентности к терапии ( $p=0,156$ ), аналогичная картина отмечалась относительно галактореи – 57% (n=16) в случае чувствительности, несколько больше - 63% (n=19) в случае резистентности к терапии ( $p=0,630$ ), (таблица 4).

**Таблица 5.** Анализ уровня пролактина в сыворотке крови и клинических особенностей пациентов

Признак	Обе группы					Чувствительность				
	N	+	N	-	p	N	+	N	-	p
Уровень ПРЛ в крови в дебюте	Снижение либидо и потенции									
	51	1500 0 [5513; 3900 0]	7	2590 [2285; 55400]	0,340	22	25600 [9000;15700 0]	6	2590 [2285; 55400]	0,099
	Увеличение массы тела									
	36	1627	22	9255		20	47200	8	6373,5	

	0	[6556,5;55400]		[3200;21000]	0,064		[15540;15700]		[2327,5;12000]	0,005
Аменорея										
28	9000	[2742,5;21000]	0	-	-	12	6373,5	[2285;15000]	0	-
Гинекомастия										
20	13000	[5506,5;18500]	38	16000	[3747;55400]	0,523	8	20570	[9065;158551]	0,859
Головная боль										
53	15000	[5000;39000]	5	14000	[9000;14000]	0,761	28	20570	[3747;94340]	-
Зрительные нарушения										
29	16000	[7000;37000]	29	9000	[2590;39000]	0,044	8	158551	[20570;295751]	0,016

+ = признак присутствует

- = признак отсутствует

Поправка Бонферрони  $p=0,05/6=0,008$

Признак	Резистентность				
	N	+	N	-	p
Уровень ПРЛ в крови в дебюте	Снижение либидо и потенции				
	29	9510 [5500;20100]	1	37000	-
	Увеличение массы тела				
	16	8500 [6013;15500]	14	14000	0,603
	Аменорея				
	16	14500 [4100;21000]	0	-	-
	Гинекомастия				
	12	6800 [5506,5;14000]	18	14500	0,290
	Головная боль				
	25	9510 [5500;21000]	5	14000	0,697
Зрительные нарушения					
	21	12000 [6513;21000]	9	9000	0,213

+ = признак присутствует

- = признак отсутствует

Поправка Бонферрони  $p=0,05/6=0,008$



Нарушение половой функции занимало лидирующую позицию в сфере проявлений опухолевой гиперпролактинемии. В частности, в группе пациентов, чувствительных к терапии, частота симптома составила 79% (n=22), в группе резистентных пациентов – 97% (n=29), что было значимо выше ( $p=0,087$ ), (таблица 4). При проведении анализа степени гиперпролактинемии и нарушения половой функции не установлено статистически значимой связи, что может быть обусловлено множественностью факторов, влияющих на снижения либидо и потенции, каждый из которых выступает в роли конфаундера, затрудняющего установление однозначной связи (таблица 5).

В ходе работы продемонстрировано, что увеличение массы тела встречалось примерно с равной частотой как в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина, так и в группе чувствительных пациентов – в группе резистентных пациентов увеличение массы тела отмечено в 53% (n=16) случаев, в группе пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина – в 71% (n=20), ( $p=0,156$ ). При этом, увеличение массы тела в качестве первичного признака заболевания встречалось в обеих группах пациентов в половине и более случаев - 16 наблюдений (53%) в случае резистентности к терапии и в 71% (20 наблюдений) в случае чувствительности к терапии агонистами дофамина ( $p=0,156$ ), (таблица 4). Выполнен анализ увеличения массы тела и степени гиперпролактинемии, по данным которого продемонстрирована статистически значимая положительная связь данных показателей в группе чувствительных к терапии пациентов ( $p=0,005$ ). В группе резистентных пациентов статистически значимой связи между признаками не установлено (таблица 5). При проведении анализа возникновения увеличения массы тела и возраста пациентов статистически значимой связи не выявлено (таблица 6), что косвенно подтверждает независимость увеличения массы тела и степени гиперпролактинемии, представленной выше.

**Таблица 6.** Анализ возраста и клинических особенностей пациентов

Признак	Обе группы					Чувствительность				
	N	+	N	-	p	N	+	N	-	p
Возраст	Увеличение массы тела									
	36	33 [22;42]	22	[26; 32]	0,45 1	20	35 [23;46 ]	8	35 [27;43 ]	0,629
	Гинекомастия									
	20	29 [19;40]	38	30 [25;40]	0,48 7	8	35 [18;46 ]	20	35 [29;44 ]	0,780
	Головная боль									
	53	29 [23;41]	5	31 [25;33]	0,74 0	28	35 [24;45 ]	0	-	-

+ = признак присутствует

- = признак отсутствует

Поправка Бонферрони  $p=0,05/3=0,017$

Признак	Резистентность				
	N	+	N	-	p
Возраст	Увеличение массы тела				
	16	28 [21;36]	14	26 [20;27]	0,647
	Гинекомастия				
	12	29 [19;35]	18	26 [23;31]	0,719
	Головная боль				
	25	26 [20;32]	5	31 [25;33]	0,597

+ = признак присутствует

- = признак отсутствует

Поправка Бонферрони  $p=0,05/3=0,017$

Одним из наиболее клинически значимых проявлений гиперпролактинемии при пролактин-секретирующей аденоме гипофиза у женщин является аменорея. Так, в группе чувствительных пациентов аменорея составила 86% (n=12), в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина – 94% (n=16), что было статистически не значимо ( $p=1,000$ ). В дебюте заболевания нарушения менструального цикла характерны для обеих групп пациентов и выявлены у 28 из 43 женщин репродуктивного возраста (65%). Нарушения менструального цикла у 15 женщин (35%) не имели характера аменореи, однако отмечались нерегулярность цикла, олигоменорея. В нашем исследовании наибольшая частота аменореи отмечена в случае резистентности к терапии агонистами дофамина (94%), по сравнению с чувствительностью к лечению (86%). При проведении анализа возникновения аменореи и уровня повышения пролактина в крови статистически значимой связи между признаками не установлено (таблица 5).

Характерное клиническое проявление гиперпролактинемии - галакторея. По данным нашего исследования частота галактореи в группе пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, составила 57% (n=16), в группе резистентных пациентов - 63% (n=19), ( $p=0,630$ ). При этом, в обеих группах пациентов преобладают I и II степени выраженности галактореи, составляя 53% (n=10) и 42% (n=8) в случае резистентности, 37,5% (n=6) и 62,5% (n=10) в случае чувствительности к терапии ( $p=0,310$ ). Среди двух групп галакторея III степени встречалась только у 1 пациента, резистентного к терапии (5%), (n=1).

Истинная гинекомастия встречается примерно с равной частотой как в группе пациентов, чувствительных к лечению агонистами дофамина, так и в группе резистентных пациентов. В случае чувствительности к терапии гинекомастия отмечена в 29% (n=8) наблюдений, в случае резистентности к лечению – в 40% (n=12), ( $p=0,360$ ). Проведенный анализ наличия гинекомастии и степени повышения уровня пролактина в сыворотке крови не продемонстрировал статистически значимой связи между анализируемыми признаками. Это свидетельствует о

неприменимости данного признака в дифференцировке чувствительности и резистентности к терапии. Анализ наличия гинекомастии и возраста пациентов, выступающий в качестве независимого контроля, также не выявил статистически значимой связи между признаками (таблица 6).

Пролактин-секретирующие аденомы гипофиза зачастую сопровождаются выраженным цефалгическим синдромом. В работе выявлено, что все пациенты, чувствительные к терапии, имели головную боль (100%), ( $n=28$ ), в группе резистентности к терапии пациенты отмечали наличие головной боли в 83% случаев ( $n=25$ ), ( $p=0,073$ ). Статистически значимой связи между наличием головной боли и возрастом пациентов, а также уровнем повышения пролактина в сыворотке крови не установлено. Таким образом, данный признак также не применим в дифференциальной диагностике чувствительности и резистентности пациентов с пролактиномами к терапии (таблица 6).

В работе проведен анализ частоты ухудшения зрения у пациентов обеих групп. Частота зрительных нарушений в группе чувствительных к терапии пациентов – 29% ( $n=8$ ), в группе пациентов, резистентных к лечению – 70% ( $n=21$ ), что статистически значимо выше ( $p=0,002$ ). При анализе характера нарушений зрения в группах пациентов отмечено, что у чувствительных пациентов превалирует битемпоральное сужение, в то время как у пациентов резистентных к терапии наблюдаются битемпоральный и концентрический типы ограничения полей зрения. При резистентности к терапии зрительные нарушения наблюдаются статистически значимо чаще, чем в случае чувствительности: битемпоральное и концентрическое сужение выявлено в 62% и 38% случаев (13 и 8 пациентов, соответственно) у резистентных пациентов, у чувствительных к терапии пациентов отмечено только битемпоральное сужение полей зрения (в 50% случаев,  $n=4$ ), при этом у двух пациентов отмечено сочетание битемпорального сужения, двоения, косоглазия и птоза (25%,  $n=2$ ), ( $p=0,003$ ). Проведен анализ степени повышения уровня пролактина и возникновения зрительных нарушений, с учетом поправки Бонферрони достаточная статистическая значимость не достигнута, что не позволяет использовать признак возникновения зрительных нарушений в качестве ориентира в идентификации резистентности к терапии (таблица 6).

### **3.3 Обсуждение клинических особенностей пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом**

Проведено комплексное изучение клинико-лабораторных, морфологических и фармакодинамических особенностей пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных к лечению агонистам дофамина, в сравнении с пациентами, чувствительными к терапии.

Соотношение мужчин и женщин было сопоставимо в группе чувствительных и резистентных пациентов и составило 1:1 и 1:1,5 соответственно, хотя по литературным данным в гендерной структуре пролактин-секретирующих аденом гипофиза преобладание женщин выражено ярче: пролактиномы у женщин диагностируют до 10 раз чаще, чем у мужчин [5]; [39]; [40]. Полученные соотношения обусловлены ограничениями, связанными с особенностями дизайна нашего исследования: набор пациентов проводился в одном медицинском учреждении, период включения пациентов был ограничен рабочим планом исследования.

При сравнительном анализе возраста манифестации установлено, что резистентные к терапии пациенты в среднем имели на 9 лет более ранний дебют заболевания, чем чувствительные к терапии. Вероятно, это обусловлено наличием признаков агрессивности резистентных к терапии пролактином и большей выраженностью клинической симптоматики у данной группы пациентов.

Основные клинические проявления пролактином обусловлены гормональной гиперпродукцией и масс-эффектом опухоли. В нашей работе самым частым клиническим проявлением заболевания в случае резистентности к терапии было нарушение половой и репродуктивной функции, снижение либидо и потенции. Превалирование нарушений половой сферы связано с тем, что повышенный уровень пролактина в сыворотке крови вызывает ингибирование синтеза кинспептина KNDY-нейронами, снижение синтеза гонадолиберина в гипоталамусе, что приводит к нарушению цикличности секреции ЛГ и ФСГ аденогипофизом и угнетению функции половых желез. Другими наиболее распространенными проявлениями у резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов были нарушение зрения и головная боль. Наличие этих симптомов коррелирует с морфологическими и топографо-анатомическими характеристиками – в нашей работе показано, что резистентные пролактиномы обладают признаками «агрессивности» роста. Резистентные пролактин-секретирующие аденомы, в отличие от чувствительных к терапии аденом, характеризуются большой частотой пара- (97% против 14% соответственно) и супраселлярного распространения (83% против 57% соответственно) и более высокой степенью инвазии – в соответствии с классификацией KNOSP IV степень инвазии выявлена в 37% случаев резистентности и только в 7% случаев чувствительности к терапии. Обратная ситуация наблюдается в случае пролактином, имеющих I степень инвазии: 50% из них относятся к случаям чувствительности и лишь 17% - резистентности к терапии (таблица 8).

Таким образом, по результатам работы выявлен комплекс характерных особенностей, играющих предиктивную роль в отношении резистентности пролактином к терапии: более молодой возраст манифестации, признаки «агрессивности» роста, преобладание в структуре

проявлений заболевания нарушений работы репродуктивной системы и ухудшения зрения. Выявление совокупности данных характеристик свидетельствует о высокой вероятности резистентности к терапии и может определять необходимость пересмотра тактики лечения.

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

Оценка уровня пролактина в сыворотке крови играет важнейшую роль в диагностике и определении лечебной тактики пациентов с пролактин-секретирующими аденомами.

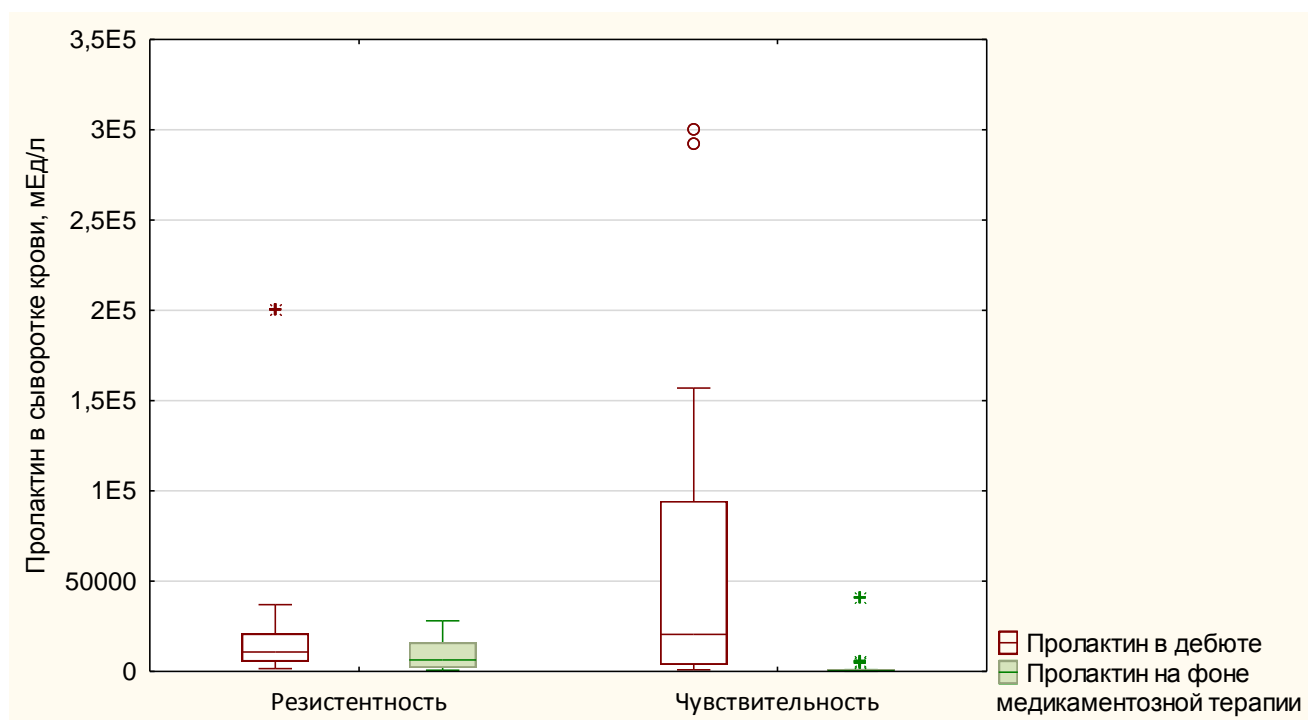
При анализе лабораторных данных установлено, что в дебюте заболевания уровень пролактина в крови значимо выше у чувствительных, чем у резистентных к агонистам дофамина пациентов. Так, в группе чувствительных пациентов медиана уровня пролактина в сыворотке крови составила 20570 мЕд/л [3747; 94340], в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина - 10755 мЕд/л [5500; 21000] ( $p=0,159$ ). При этом анализ показателя на фоне лечения демонстрирует обратную ситуацию: у резистентных пациентов уровень гиперпролактинемии статистически значимо выше: резистентные - 6350 мЕд/л [2100; 16000], чувствительные - 424,5 мЕд/л [300; 1009] ( $p<0,001$ ). Данные отражены в таблице 7 и на рисунке 5.

**Таблица 7.** Уровень пролактина в сыворотке крови у чувствительных и резистентных к терапии пациентов в дебюте и на фоне лечения агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии		Резистентность к терапии		p, U-test
	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	
<b>ПРЛ в дебюте, мЕд/л</b>	28	20570 [3747; 94340]	30	10755 [5500; 21000]	0,159
<b>ПРЛ на фоне медикаментозной терапии, мЕд/л</b>	28	424,5 [300; 1009]	30	6350 [2100; 16000]	0,001

ПРЛ - пролактин

Поправка Бонферрони  $p=0,05/2=0,025$



**Рисунок 5.** Уровень пролактина в сыворотке крови у чувствительных и резистентных к терапии пациентов в дебюте и на фоне лечения агонистами дофамина (количество пациентов, чувствительных к терапии – 28; количество пациентов, резистентных к терапии – 30)

### 3.5 Обсуждение лабораторных особенностей пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом

Исходно высокий уровень пролактина в сыворотке крови чувствительных к терапии пациентов может быть обусловлен спецификой включения в исследование – большую часть представляли собой пациенты, находящиеся на стационарном лечении, с ярко выраженной клинической картиной и многочисленными проявлениями заболевания. Однако на фоне продолжающейся терапии агонистами дофамина продемонстрирован значительно более высокий уровень пролактина в сыворотке крови резистентных пациентов, чем у чувствительных, что соответствует клинко-лабораторным проявлениям заболевания у резистентных к терапии пациентов и коррелирует с данными литературы [41]; [49]; [100].

В большинстве работ, посвященных изучению клинических особенностей пролактином, продемонстрирована зависимость значения пролактина и размера опухоли в случае аденом, чувствительных к терапии агонистами дофамина: показано, что уровень гиперпролактинемии ниже при микроаденомах, чем при макроаденомах [41]; [78]; [122]. В нашем исследовании оценена корреляция размера аденомы с уровнем гиперпролактинемии не только у чувствительных, но и резистентных к терапии пациентов. Так, при анализе данных чувствительных пациентов получены сходные с данными литературы результаты и отмечена

зависимость повышения уровня пролактина в сыворотке крови от увеличения размера пролактиномы. Однако в группе пациентов, резистентных к терапии, подобной связи не выявлено – уровень гиперпролактинемии не зависел от размеров опухоли. Одна из причин – большая агрессивность, свойственная резистентным к терапии пролактиномам, одним из проявлений которой является интенсивная гормональная активность, даже в случае маленького размера аденомы [17]; [26]; [37].

Таким образом, у пациентов с пролактиномами, резистентных к лечению агонистами дофамина, уровень пролактина в сыворотке крови в дебюте заболевания выше, чем у чувствительных пациентов. У резистентных пациентов исходный уровень пролактина в крови одинаково высок как при микро-, так и при макроаденомах. Выраженность гиперпролактинемии положительно коррелирует со степенью инвазии аденомы, что характерно для пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина.

### 3.6 Морфологические и топографо-анатомические характеристики резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом

По данным МР-исследований оценены размер, структура аденом, направление распространения опухоли по отношению к турецкому седлу и инвазивность роста в соответствии с классификацией KNOSP. Данная система широко используется для классификации аденом гипофиза, позволяя оценить инвазию в кавернозные синусы, стратифицировать предстоящие топографические изменения опухоли и проанализировать прогноз радикальности оперативного лечения [36]; [97]; [105].

**Таблица 8.** Сравнение групп чувствительных и резистентных пациентов по морфологическим характеристикам аденомы

Признак		Чувствительность к терапии		Резистентность к терапии		p
		N	Me [Q1; Q3] / n (%)	N	Me [Q1; Q3] / n (%)	
Объем в дебюте, мм		28	6770 [472,5; 17544]	30	1848 [540; 6930]	0,331 <sup>1</sup>
Аденома	Микроаденома	28	4 (14%)	30	7 (23%)	0,587 <sup>4</sup>
	Макроаденома		24 (86%)		23 (77%)	
Гигантская аденома	Нет	28	18 (64%)	30	23 (77%)	0,301 <sup>2</sup>
	Да		10 (36%)		7 (23%)	
Инвазивность по KNOSP	Нет инвазии	28	6 (21%)	30	7 (23%)	<0,001 <sup>2</sup>
	I степень		14 (50%)		2 (7%)	
	II степень		6 (21%)		2 (7%)	
	III степень		0 (0%)		6 (20%)	
	IV степень		2 (7%)		13 (43%)	
Эндоселлярный рост	Нет	28	6 (21%)	30	0 (0%)	0,025 <sup>4</sup>
	Да		22 (79%)		30 (100%)	
Параселлярный рост	Нет	28	24 (86%)	30	1 (3%)	<0,001 <sup>4</sup>
	Да		4 (14%)		29 (97%)	
Инфраселлярный рост	Нет	28	16 (57%)	30	26 (87%)	0,026 <sup>4</sup>
	Да		12 (43%)		4 (13%)	

<b>Супраселлярный рост</b>	Нет	28	12 (43%)	30	5 (17%)	0,029 <sup>2</sup>
	Да		16 (57%)		25 (83%)	
<b>Ретроселлярный рост</b>	Нет	28	24 (86%)	30	29 (97%)	0,309 <sup>4</sup>
	Да		4 (14%)		1 (3%)	
<b>Антеселлярный рост</b>	Нет	28	26 (93)	30	30 (100%)	0,229 <sup>3</sup>
	Да		2 (7%)		0 (0%)	
<b>Инвазия в кавернозные синусы</b>	Нет	28	18 (64%)	30	12 (40%)	0,001 <sup>3</sup>
	Оба		2 (7%)		15 (50%)	
	Левый		4 (14%)		2 (7%)	
	Правый		4 (14%)		1 (3%)	
<b>Кистозный компонент</b>	Нет	28	13 (46%)	30	28 (93%)	<0,001 <sup>4</sup>
	Да		15 (54%)		2 (7%)	

Поправка Бонферрони  $p=0,05/12=0,004$

1 – U-test

2 – хи-квадрат Пирсона

3 – точный критерий Фишера

4 – хи-квадрат с поправкой Йетса

Среди всех пациентов, включенных в исследование, макроаденомы встречались в 81% (n=47), микроаденомы – в 19% (n=11) случаев. В группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина, частота наличия макроаденомы составила 77% (n=23), в группе чувствительных пациентов – 86% (n=24) ( $p=0,587$ ). Таким образом связи между размером аденомы, не превышающим 10 мм и чувствительностью к терапии агонистами дофамина отмечено не было. Среди макроаденом гипофиза в группе резистентных к агонистам дофамина пациентов в 23% (n=7) диагностирована гигантская аденома диаметром более 4 см, в группе чувствительных пациентов – в 36 % (n=10). Микроаденомы встречались в группе чувствительных пациентов в 14% случаев (n=4), в группе резистентных пациентов – в 23% случаев (n=7) ( $p=0,587$ ). Таким образом, по данным проведенной работы отмечена тенденция к меньшему размеру пролактин-секретирующих аденом гипофиза у пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина. При этом известно, что в случае резистентности к терапии пролактиномы характеризуются большими размерами, чем в случае чувствительности к терапии. Противоречащие этому данные, полученные в результате нашего исследования, могут быть обусловлены более агрессивными клиническими проявлениями пролактин-секретирующих аденом в группе резистентных пациентов, что определило их выявление на более раннем этапе. При проведении анализа вероятность наличия резистентности к терапии не зависела от размера пролактин-секретирующей аденомы, различий в частоте микро- и макропролактином между группами чувствительных и резистентных к агонистам дофамина пациентов не выявлено.

По данным анализа наибольшая вероятность резистентности к терапии была в случае инвазивности пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Так, в группе резистентных пациентов в большинстве случаев имеет место инвазивный характер роста пролактиномы IV степени по KNOSP – 43% (n=13), в то время как в группе чувствительных пациентов этот



показатель составляет только 7% (n=2). Напротив, минимальная инвазивность (I степень по KNOSP) превалирует в группе чувствительных пациентов – 50% (n=14) против 7% (n=2) в группе резистентных к лечению агонистами дофамина пациентов. Инвазия II степени также преобладает в группе чувствительных пациентов - 21%, (n=6) против 7% (n=2) у резистентных к терапии пациентов, в то время как инвазивный характер роста III степени в большей степени отмечен в группе резистентных пациентов - 20% (n=6) против 0% (n=0) в группе чувствительных пациентов ( $p<0,001$ ).

В работе продемонстрировано увеличение вероятности резистентности к терапии при инвазии обоих кавернозных синусов. Отмечено преобладание инвазии обоих кавернозных синусов в группе резистентных к лечению агонистами дофамина пролактином – 50% (n=15) против 7% (n=2) в группе чувствительных пациентов ( $p<0,001$ ).

При анализе данных об особенностях роста пролактин-секретирующих аденом в отношении турецкого седла показана большая частота параселлярного распространения аденом в случае резистентности к терапии. Так, в группе резистентных пациентов частота параселлярного распространения составила 97% (n=29), в группе пациентов, чувствительных к терапии - 14% (n=4) ( $p<0,001$ ). Также выявлено преобладание супраселлярного характера роста в группе пациентов, резистентных к терапии - 83% (n=25), в группе чувствительных пациентов супраселлярное распространение пролактин-секретирующей аденомы отмечено в 57% (n=16) случаев ( $p=0,029$ ).

Частота эндоселлярного роста аденомы в группе резистентных пациентов составила 100% (n=30), в группе пациентов, чувствительных к терапии – 79% (n=22), ( $p=0,025$ ). Ретроселлярное распространение отмечено в 3% (n=1) случаев у пациентов, резистентных к терапии и в 14% (n=4) случаев у чувствительных пациентов ( $p=0,309$ ). Инфраселлярный характер роста в большей степени отмечен в группе чувствительных пациентов и составил 43% (n=12) случаев, в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина – 13% (n=4) ( $p=0,026$ ).

Таким образом, не выявлено статистически значимых различий между двумя исследуемыми группами в частоте эндо- и ретроселлярного распространения.

Продemonстрировано отличие чувствительных и резистентных к терапии пациентов по наличию кистозного компонента аденомы – в группе чувствительных пациентов этот параметр встречается в 54% (n=15), а в группе резистентных пациентов – лишь в 7% (n=2) ( $p<0,001$ ).

Таким образом, наибольшая вероятность резистентности к терапии наблюдалась в случае сочетания больших размеров пролактин-секретирующей аденомы (10 и более мм), инвазивного роста, соответствующего II-IV степени инвазии в соответствии с классификацией KNOSP,

направлении роста в оба кавернозных синуса, пара- и супраселлярного характера распространения опухоли. Данные представлены в таблице 8.

### **3.7 Обсуждение морфологических и топографо-анатомических характеристик резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом**

Известно, что пациенты с пролактин-секретирующей аденомой, резистентные к терапии агонистами дофамина, в большем числе случаев имеют аденому размерами более 10 мм [42]; [93]; [94]; [104]. В нашей работе не отмечена данная закономерность – пациенты в обеих группах в равной степени имели макроаденому гипофиза (23 наблюдения в случае резистентности и 24 наблюдения в случае чувствительности к терапии), что обусловлено особенностями включения пациентов в исследование, преимущественным нахождением на стационарном лечении, ограниченным размером выборки. Однако, несмотря на отсутствие демонстрации отличия в размерах, показана большая степень инвазивности пролактин-секретирующих аденом в случае резистентности к лечению агонистами дофамина, что соответствует их агрессивным патоморфологическим характеристикам.

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

В ходе исследования выявлены особенности, присущие пациентам с резистентными пролактиномами: выраженно инвазивный характер роста с преобладанием максимальной, IV степени инвазии, в соответствии с классификацией KNOSP, преимущественно супра- и параселлярный характер роста. Супраселлярное распространение пролактин-секретирующих аденом у пациентов, резистентных к терапии соответствует более высоким темпам увеличения размера аденомы, по сравнению таковым у чувствительных пациентов. Преимущественное параселлярное распространение обусловлено как морфологическими, так и эмбриогенетическими особенностями пролактином – в ходе дифференцировки ткани гипофиза лактотрофы располагаются преимущественно в области заднебоковых отделах гипофиза, непосредственно прилегающих к границе с кавернозными синусами, что обуславливает распространение аденомы в этом направлении. Сочетание указанных топографо-анатомических особенностей и склонности к быстрой пролиферации, характерной для резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов, определяет наличие данных характеристик [46]; [64]; [86]; [115].

Кроме того, у пациентов, резистентных к лечению, выявлена большая частота нарушений зрения, в первую очередь – битемпорального характера, что соответствует характеру роста пролактин-секретирующих аденом в данной группе пациентов и подчеркивает необходимость

наиболее ранней диагностики резистентности пролактином к терапии для выбора оптимальной тактики лечения и предотвращения необратимых изменений.

### **3.8 Генетические характеристики резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом. Профили экспрессии генов резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом**

#### **3.8.1 РНК-секвенирование резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом**

Молекулярно-генетическое исследование выполнено 27 пациентам, из них критериям валидности молекулярной визуализации по качеству и воспроизводимости результатов соответствовали 13 образцов пролактин-секретирующих аденом гипофиза, среди которых было 8 резистентных и 5 чувствительных к медикаментозной терапии агонистами дофамина.

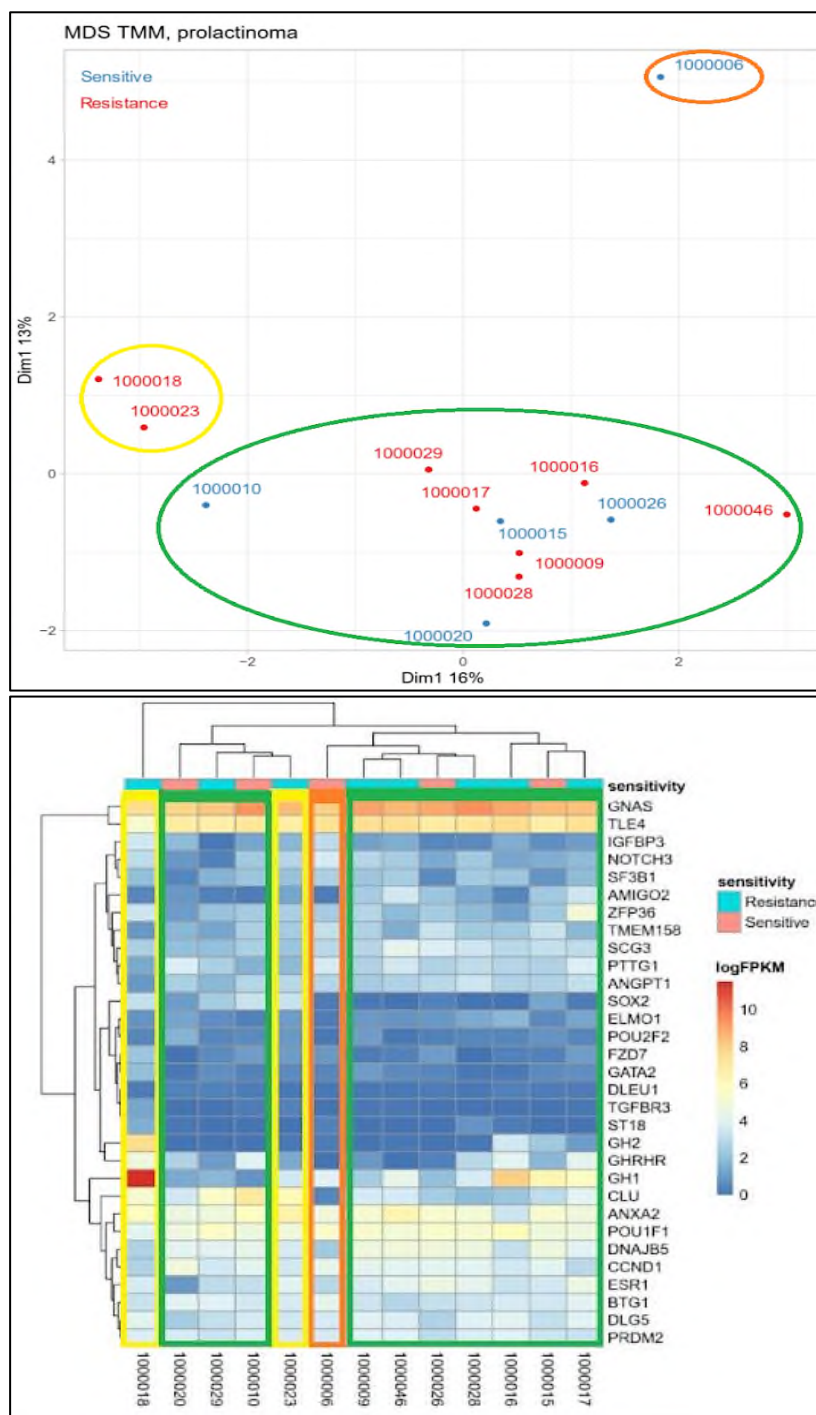
Секвенирование всех образцов пролактином проведено с помощью двух базисных методов РНК-секвенирования - Bulk-RNA-sequencing (RNA-seq/Bulk-RNA-seq) и CAGE-sequencing (CAGE-seq, cap analysis of genes expression).

Первоначально использован метод Bulk-RNA-sequencing, позволяющий оценить генетическую вариабельность на всем протяжении транскрибируемой области. В соответствии с полученными данными выявлена вариабельность экспрессии генов, формирующая паттерн, характерный для каждой из групп пролактин-секретирующих аденом: как чувствительных, так и резистентных к терапии. Выявлены группы генов, отличающихся высокими показателями экспрессии в группе резистентных пролактином и сравнительно низкой экспрессией – в группе пролактином, чувствительных к терапии.

Наиболее важным инструментом анализа данных Bulk-RNA-seq является метод многомерного масштабирования с построением графиков MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). Метод обеспечивает визуализацию анализа основных параметров экспрессии генов, которые определяют ключевые изменения в исследуемых образцах и объединение их в группы по определенным характеристикам (Рисунок 6, А).

При анализе данных RNA-seq 13 образцов пролактином построен график MDS для оценки единства и различия образцов. Обнаружено, что большая часть пролактином - как чувствительных, так и резистентных к терапии, группируются вместе, следовательно, имеют схожий профиль экспрессии генов. Однако, один образец, относящийся к группе чувствительных к терапии пролактином, выделялся из общей массы (Рисунок 6, А, образец 1000006). При анализе клинической картины пациента, от которого был получен данный материал, отмечен инвазивный рост аденомы с прорастанием в кавернозные синусы. Также выявлено два образца пролактин-

секретирующих аденом, сгруппированных вместе, однако также отличающихся от общего кластера пролактином (Рисунок 6, А, образцы 1000018 и 1000023). В ходе изучения клинической картины данных образцов выявлено, что они относятся к группе резистентных к терапии пролактином, кроме того характеризуются агрессивным характером роста.



**Рисунок 6.**

А - График MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования).

На графике изображены группы образцов пролактин-секретирующих аденом гипофиза. График построен на основании анализа данных Bulk RNA-seq.

Б - Тепловая карта уровней экспрессии генов потенциально таргетных для диагностики и лечения пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Цветными прямоугольниками выделены выявленные на графике MDS группы образцов.

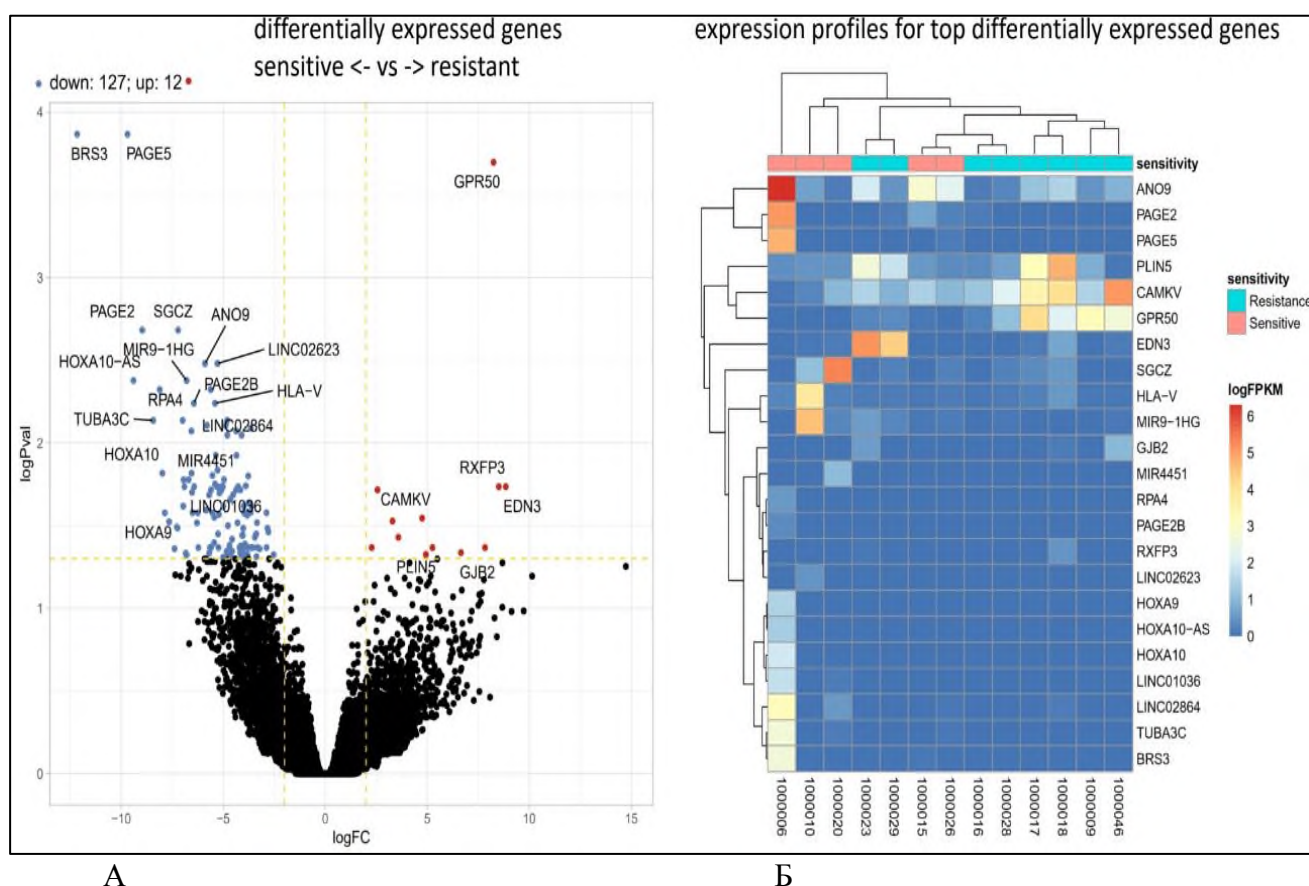
Проведен анализ профилей экспрессии генов в 13 образцах пролактин-секретирующих аденом, подбор исследуемых генов осуществляется в соответствии с данными литературы [30]; [38]; [48]; [60]; [78]; [79]; [154]; [156]; [157]. В работах описывалось увеличение экспрессии генов *SF3B1*, *RIS1*, *POU1F1*, *POU2F2*, *DNAJB5*, *ANGPT1*, *ELMO1*, *NOTCH3*, *TLE4*, *GHRHR*, *GHI*, *SCG3*, *ANXA2*, *CLU*, *GH2* и ингибирование экспрессии генов *TGFBR3*, *ST18*, *DLEU1*, *IGFBP3*, *FZD7*, что характерно для пролактином различной чувствительности и агрессивности.

По данным проведенного исследования обнаружено, что во всех образцах пролактином, вне зависимости от статуса чувствительности к медикаментозному лечению, отмечены высокие показатели экспрессии генов *GNAS* и *TLE4*, а также *ANXA2* и *POU1F1* (Рисунок 6, Б). Обращает на себя внимание повышенная экспрессия гена *GHI* в трех образцах пролактином (Рисунок 6, Б, образцы 1000016, 1000017, 1000018), относящихся к группе резистентных опухолей. При анализе клинической картины пациентов, от которых получены указанные образцы, выявлены признаки агрессивного роста аденом: экстракapsлярное распространение, инвазия кавернозных синусов, прогрессирующее увеличение размеров. Кроме того, отмечен один образец (Рисунок 6, Б, образец 1000015), демонстрирующий высокую экспрессию гена *GHI*, однако относящийся к группе пролактином, чувствительных к терапии. Особенностью данного клинического случая пациента также является тенденция к быстрому росту и инвазии в близлежащие структуры. Таким образом, по данным РНК-секвенирования методом Bulk-RNA-sequencing выявлено наличие характерных изменений, присущих пролактин-секретирующим аденом гипофиза, вне зависимости от их пролиферативной и секреторной активности.

Для визуализации распределения дифференциально экспрессируемых генов использовалась методика Volcano plot с построением вулканической диаграммы (Рисунок 7, А). Преимущество методики - возможность качественно идентифицировать значимые различия в экспрессии генов. Из общего пула идентифицированных генов 12 имели повышенную экспрессию, 127 генов - пониженную (Рисунок 7, А). Группы пролактин-секретирующих аденом оценивались относительно друг друга - чувствительные относительно резистентных, соответственно.

При анализе генов, проявляющих выраженную дифференцированную экспрессию, выявлены особенности, присущие группе чувствительных и резистентных к терапии пролактин-секретирующих аденом гипофиза.

По данным дифференцированного анализа экспрессии генов выявлено, что в образцах пролактином, резистентных к терапии, отмечается активация экспрессии ряда генов: *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2* и выраженное ингибирование экспрессии генов *PAGE2*, *SGCZ*, *ANO9*, *HOXA10-AS*, *TUBA3C*, *HOXA10*, *HOXA9*, *MIR4451*, *LIN01036*, *HLA-V*, *BRS3*, *PAGE5* (Рисунок 7, Б). В случае чувствительности к терапии обнаружена преобладающая активация следующих генов: *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGCZ*, *HLA-V*, *MIR9-1HG*, *LIN01036*, *TUBA3C*, *BRS3* (Рисунок 7, Б). Отмечено ингибирование экспрессии генов: *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2* (Рисунок 7, Б).



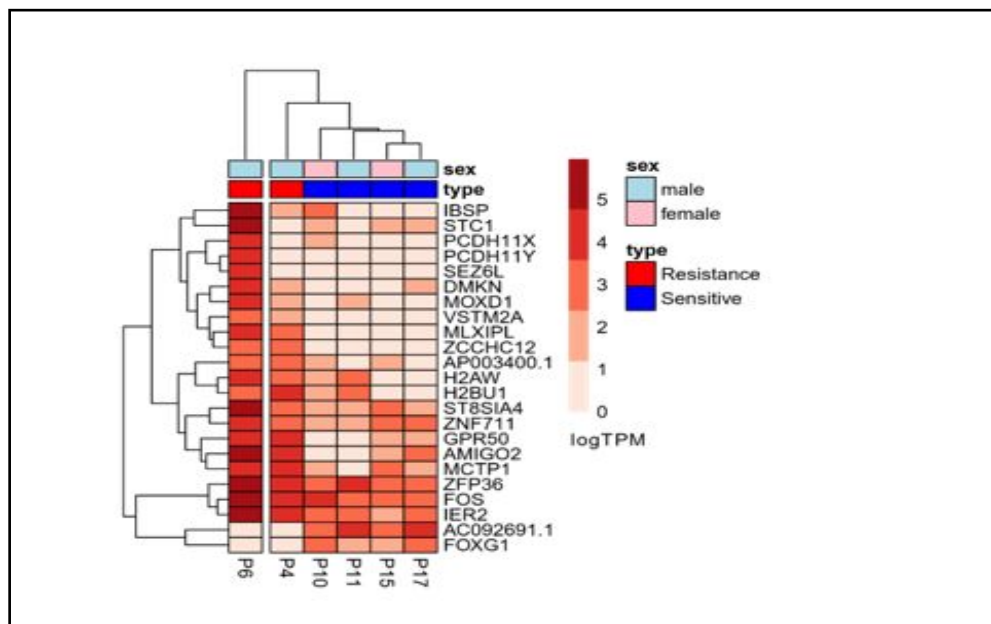
**Рисунок 7.**

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

Б - Тепловая карта уровней дифференциально экспрессируемых генов пролактин-секретирующих аденом гипофиза.

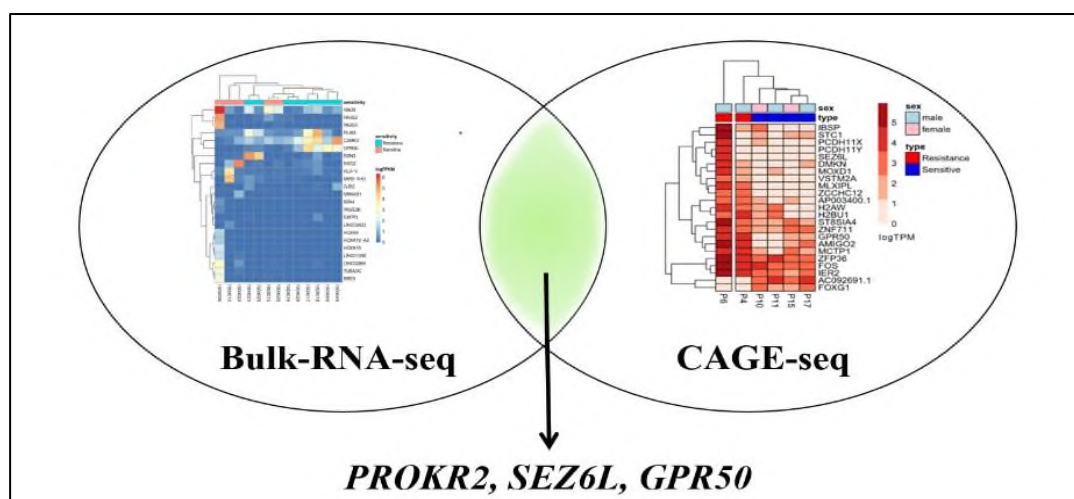
На основании полученных результатов продемонстрирована противоположная активность экспрессии ряда генов между чувствительными и резистентными пролактиномами. Однако, один образец значительно отличался от общей группы по дифференциальной экспрессии генов (Рисунок 7, Б, образец 1000006). Необходимо отметить, что данный образец также имел отличающийся профиль экспрессии генов по данным графика MDS (Рисунок 6, А).

После анализа данных Bulk-RNA-sequencing был применен метод CAGE-sequencing, позволяющий таргетно оценить генетические характеристики ткани в промоторной области – месте начала транскрипции (Рисунок 8).



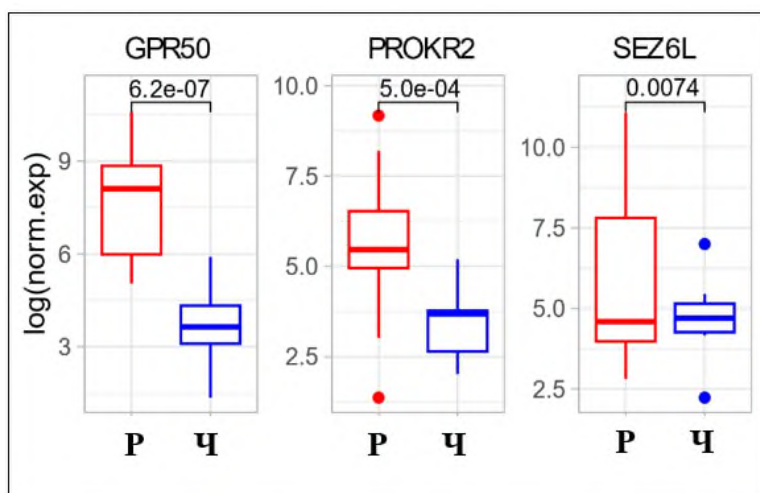
**Рисунок 8.** Тепловая карта профилей дифференциально экспрессируемых генов резистентных и чувствительных пролактином по данным CAGE-sequencing

С помощью метода транскриптомного совмещения (transcriptomics superposition method, TSM) были интегрированы данные секвенирования Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing. Это позволило выявить три гена, безусловно совпадающих по показателям экспрессии – гены *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50* характеризуются значительно высокой сравнительной экспрессией при анализе обоими методами секвенирования (Рисунок 9).



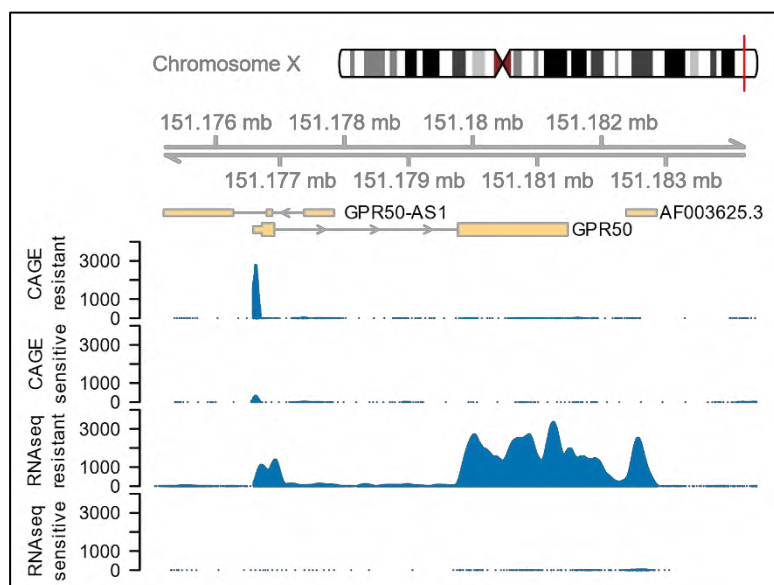
**Рисунок 9.** Избранные гены, демонстрирующие аналогично высокие показатели экспрессии по данным двух методов секвенирования Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing





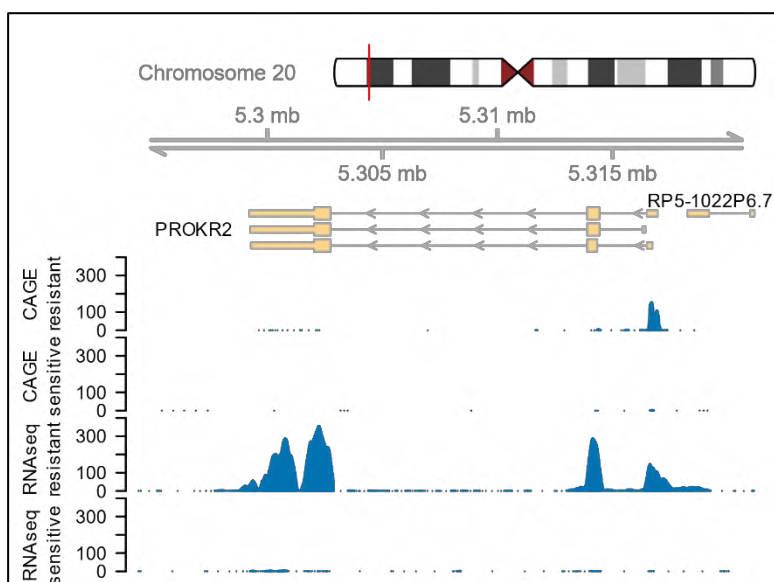
**Рисунок 10.** Показатели экспрессии избранных генов, имеющих аналогично высокие показатели экспрессии по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином. Статистическая значимость разницы экспрессии между группами чувствительных и резистентных пролактином представлена false discovery rate (FDR), рассчитанном на интегрированной базе данных.

P – резистентные пролактиномы, Ч – чувствительные пролактиномы.

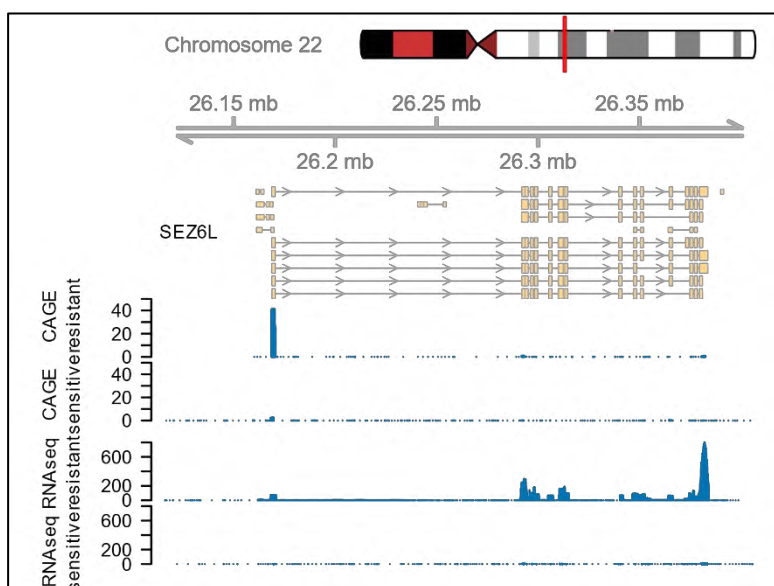


**Рисунок 11.** Геномные характеристики гена *GPR5*: величина экспрессии, длина транскриптов, по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing отдельно. Группы чувствительных и резистентных пролактином





**Рисунок 12.** Геномные характеристики гена *PROKR2*: величина экспрессии, длина транскриптов, по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing отдельно. Группы чувствительных и резистентных пролактином



**Рисунок 13.** Геномные характеристики гена *SEZ6L*: величина экспрессии, длина транскриптов, по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing отдельно. Группы чувствительных и резистентных пролактином

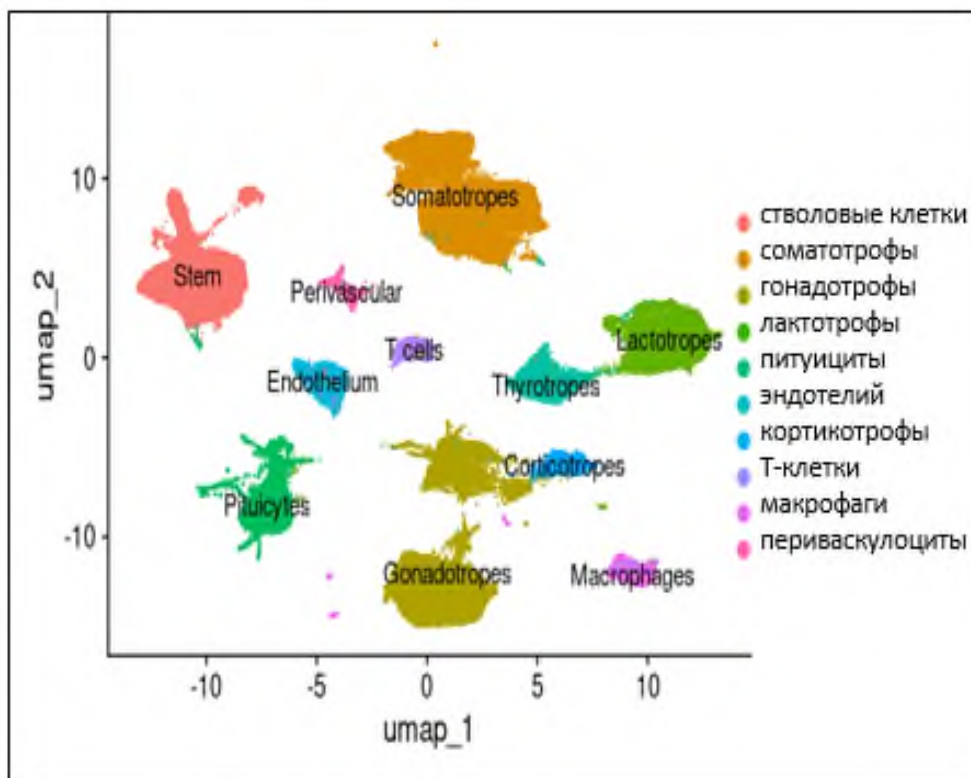
Продемонстрированы конкордантные показатели экспрессии генов *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50* по данным как Bulk-RNA-seq, так и CAGE-seq: в обоих случаях отмечено повышение экспрессии в группе резистентных пролактином (рисунки 11, 12, 13).

**Таблица 9.** Аннотация функций избранных генов, имеющих аналогичные показатели дифференциальной экспрессии по данным Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing в группах резистентных и чувствительных пролактином

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

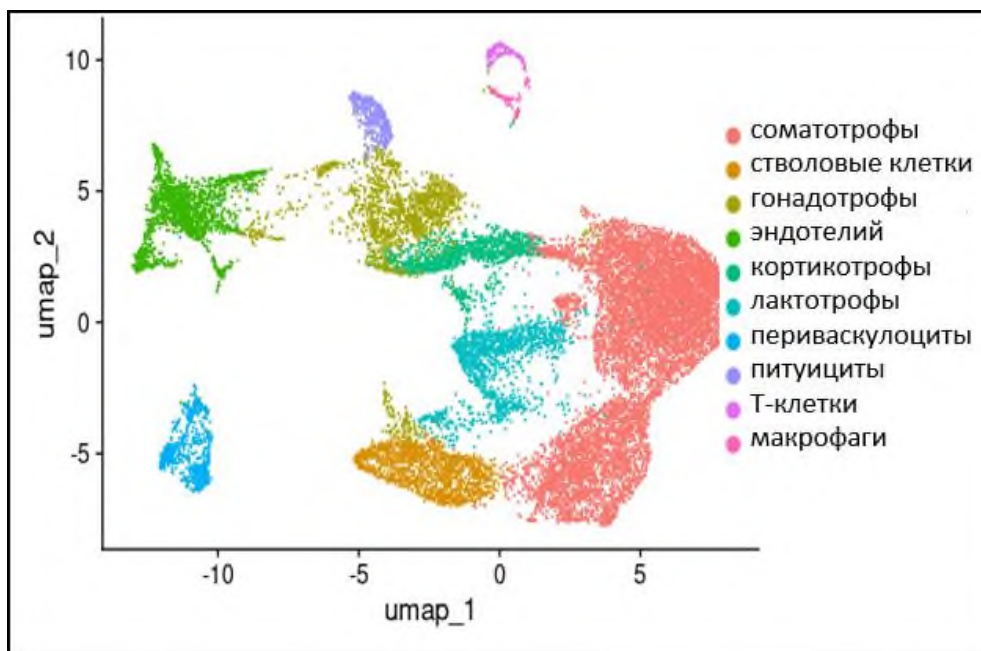
### 3.8.2 Секвенирование единичных клеток резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом

С целью оценки топографии генетических изменений пролактином в контексте клеточного разнообразия опухоли проведен анализ клеточной гетерогенности, векторов развития и трансформации клеток методом секвенирования единичных клеток (single-cell sequencing) (Рисунок 14). Гетерогенность клеточного состава пролактин-секретирующих аденом гипофиза проанализирована через призму соответствия валидизированным генетическим альтерациям, определенным на большой выборке опухолей [20]; [45]; [87]; [129]; [131]; [136]; [137]; [139].



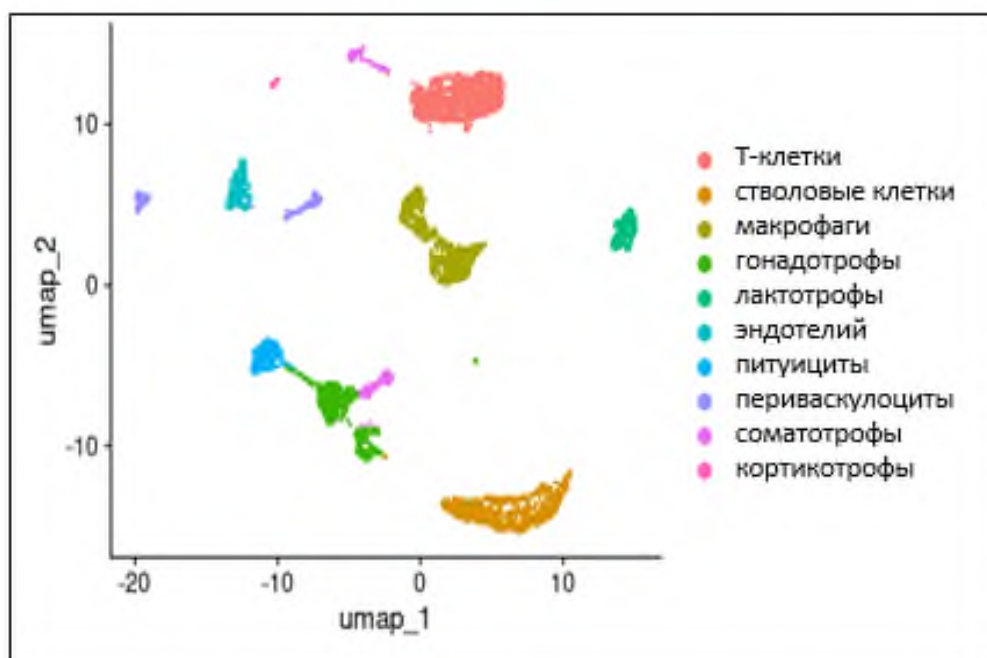
**Рисунок 14.** Интегрированный scRNAseq образцов пролактиномы, нормального гипофиза и референсного датасета (REF). Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (79604 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа. Аннотация соотнесена с референсным датасетом

Использование способа интеграции данных секвенирования единичных клеток между несколькими образцами позволяет оценить единство качественного и количественного клеточного состава, а также унифицированность генетического разнообразия [135]; [138]; [140]; [141]; [142]; [143]. В контексте рассмотрения исследуемых нами образцов показано, что имеется четкая дифференцировка на типы клеток и их закономерная стереотипная кластеризация. Демонстрируемые данные свидетельствуют о валидности проведенного анализа и пригодности анализируемого материала для таргетных исследований.



**Рисунок 15.** scRNAseq dataset образца нормального гипофиза. Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (16456 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа. Аннотация соотнесена с интегрированным датасетом

На следующем этапе анализа данных проведена клеточная кластеризация в образце ткани относительно здорового гипофиза, полученного в качестве адверсивного субстрата при трансфеноидальной аденомэктомии. Продемонстрирована корректная кластеризация клеток гипофиза. Отмечается выраженная коннекторная линия между клеточными типами соматотрофов, лактотрофов и стволовых клеток, с частичной представленностью единичных клеток каждого их типов внутри соседних кластеров данной группы клеток. Выявленные особенности коррелируют с эмбриогенетическими механизмами дифференцировки клеток аденогипофиза, в соответствии с которыми имеются общие ключевые транскрипционные фактора (важнейший из которых – Pit-1), детерминирующие развитие лакто- и соматотрофов (рисунок 15).



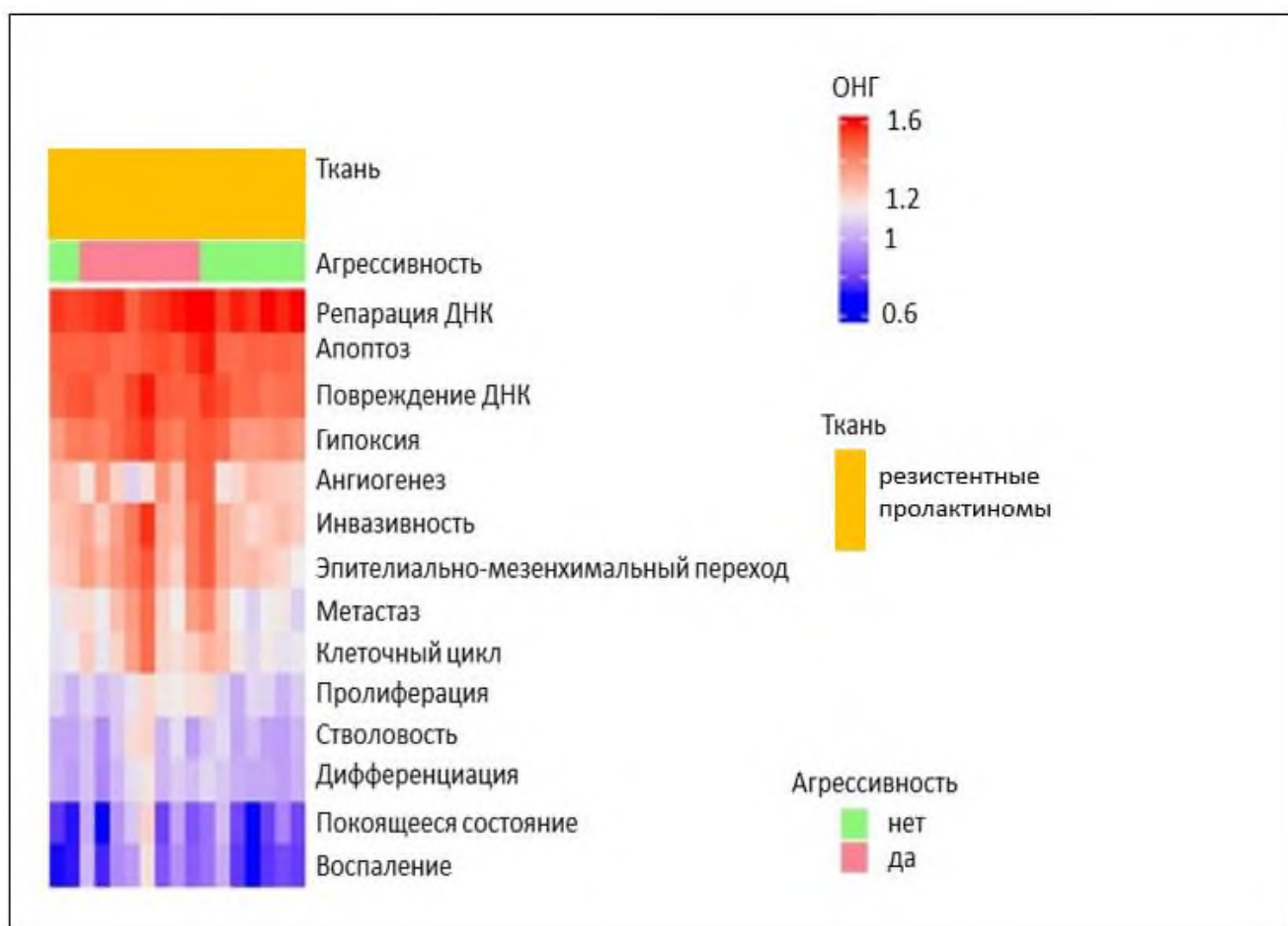
**Рисунок 16.** scRNAseq dataset образца пролактиномы. Uniform manifold approximation and projection (UMAP) график всех клеток, прошедших контроль качества (5490 клеток), с аннотацией соответствующего клеточного типа. Аннотация соотнесена с интегрированным датасетом

Наибольшую сложность, в связи с ограниченностью материала, доступного для исследования, представлял собой анализ секвенирования единичных клеток образца пролактиномы, резистентной к терапии. Показано, что клетки опухолевой ткани объединяются в стереотипные группы, демонстрирующие коннекторные связи между группами клеток. Однако отмечены особенности, не имеющие место в случае относительно здорового гипофиза и не обнаруженные на примере интегрированного образца. Так, выявлено большая, относительно других клеточной типов, представленность стволовых клеток, отражающих потенциал дифференцировки; иммунных клеток - Т-лимфоцитов, макрофагов.

### 3.8.3 Анализ обогащения набора генов резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом

Проведен анализ обогащения набора генов (ОНГ), характеризующих фенотип опухоли (Рисунок 17). Были использованы наборы генов, ассоциированных с наличием ключевых патологических параметров фенотипа аденомы: активность репарации ДНК, апоптоз, повреждение ДНК, гипоксия, ангиогенез, инвазивность, эпителиально-мезенхимальный переход, метастазирование, нарушения клеточного цикла, пролиферация, низкая дифференцированность, покоящееся состояние, воспаление [144]. Выявлена стереотипная гетерогенность генетического ландшафта пролактином, соответствующая характерным генным сигнатурам. Каждая из генных

сигнатур детерминирует фенотипическую реализацию определенного признака. Так, в нашем исследовании в группе пациентов, резистентных к терапии, выявлена преобладающая экспрессия генных сигнатур, ассоциированных с агрессивностью опухоли, нарушением процесса репарации ДНК с преимущественным поддержанием процессов повреждения нуклеиновых кислот, наличием гипоксии, тенденцией к инвазивному росту. Все указанные характеристики свидетельствуют о молекулярно-генетическом подтверждении преобладания негативных про-пролиферативных процессов, характерных для резистентных пролактином.



**Рисунок 17.** Анализ обогащения набора генов (ОНГ) ассоциированных с репарацией ДНК, апоптозом, повреждением ДНК, гипоксией, ангиогенезом, инвазивностью, эпителиально-мезенхимальным переходом, метастазом, клеточным циклом, пролиферацией, стволовостью, дифференциацией, состоянием покоя, воспалением. Расчет ОНГ проводился для образцов пролактином гипофиза. ОНГ - индекс обогащения набора генов

### 3.9 Обсуждение генетических характеристик резистентных и чувствительных пролактин-секретирующих аденом

Выявлены характерные генетические изменения, присущие пролактин-секретирующим аденомам, резистентным к терапии и проявляющим признаки агрессивности роста. Отмечается

противоположная экспрессия определенных генов в образцах чувствительных и резистентных пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Так, в случае резистентности к терапии активирована экспрессия генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3*. Экспрессия этих же генов ингибирована в случае чувствительных пролактином. Напротив, в образцах пролактином, чувствительных к медикаментозной терапии, выявлена активация экспрессии ряда генов: *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGC*, *TUBA3C*, *BRS3*. Экспрессия всех обнаруженных генов подавлена в образцах резистентных к терапии пролактин-секретирующих аденом. Обнаруженные генетические нарушения подтверждены в результате применения двух различных методов анализа молекулярной визуализации - многомерного масштабирования и вулканического анализа, взаимно усиливающих и дополняющих друг друга. Также использован метод транскриптомного совмещения (transcriptomics superposition method), интегрирующий данные двух методов секвенирования: Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing. Результатом стало сужение круга «генов интереса» среди уже выделенных в качестве дифференциально экспрессируемых и потенциально таргетных генов. Выявлено три гена, - *PROKR2*, *SEZ6L*, *GPR50*, демонстрирующих конкордантно высокую экспрессию в случае резистентности к терапии. При анализе функции данных генов и кодируемых ими белков отмечается их синергизм в отношении детерминации неблагоприятного вектора развития опухоли: их действие заключается в увеличении секреторной и митотической активности клеток, усилении ангиогенеза, что определяет про-пролиферативный эффект и склонность к инвазии окружающих тканей [87]; [88].

Таким образом, выявлены характерные генные паттерны, детерминирующие развитие агрессивного фенотипа опухоли – что подтверждается как изолированным анализом данных Bulk-RNA-sequencing и CAGE-sequencing, так и оценкой их интегрированных результатов по данным метода транскриптомного совмещения.

Необходимо отметить, что полученные нами данные обнаруживают соответствие и дополняют результаты уже проведенных исследований генетического материала резистентных и агрессивных пролактин-секретирующих аденом гипофиза [61]; [75]; [81]. Корреляция результатов различных независимых работ свидетельствует о возможности имплементации подходов к персонализации лечения.

Полученные интегрированные данные секвенирования единичных клеток демонстрируют единообразие и типичность кластеризации клеток, соотносимую между всеми исследуемыми образцами. При этом, выявляются особенности клеточного состава, характерные именно для резистентной группы опухолей – преимущественное наличие стволовых клеток, обнаружение большего числа иммунных клеток: Т-лимфоцитов и макрофагов. Результаты свидетельствуют о возможности полноценного использования метода секвенирования единичных клеток в

контексте изучения пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Более того, целесообразно углубленное изучение и уточнение состава клеточных ансамблей опухолей, определение их пространственно-временных соотношений для определения диагностических маркеров и мишеней таргетной терапии.

Выявленные по данным секвенирования единичных клеток и анализа обогащения набора генов характерные генные сигнатуры и их дифференциальная экспрессия в образцах пролактином пациентов, резистентных и чувствительных к терапии, свидетельствуют о детерминированности агрессивного, резистентного фенотипа аденомы ее клеточной гетерогенностью. Это косвенно подтверждается наличием коннекторной линии между клеточными кластерами лактотрофов, соматотрофов и стволовых клеток в образце резистентной пролактин-секретирующей аденомы, что может свидетельствовать о существовании клеточной «переходной» зоны с неблагоприятным потенциалом малигнизации. Выявление специфических генных сигнатур позволит определить преимущественные сигнальные пути, задействованные в процессе туморогенеза и определении агрессивного вектора развития опухолей гипофиза, как пролактин-секретирующих, так и с различной гормональной активностью, с перспективой разработки подходов к их блокировке или модуляции.

Обнаруженные по данным РНК-секвенирования и секвенирования единичных клеток генетические особенности, вариабельность экспрессии определенных генов, гетерогенные клеточные характеристики являются перспективными мишенями адъювантного лечения и основой разработки методов ранней диагностики. Определение особенностей, характерных как для резистентных и агрессивных пролактином, так и для других нейроэндокринных опухолей гипофиза является основой для разработки таргетных и иммунных методов терапии, в том числе с использованием CAR-T технологий, представляющих ключевые направления будущих исследований.

Полученные транскриптомные и молекулярно-генетические данные открывают возможности дальнейших протеомных исследований резистентных аденом гипофиза с построением интерактома, включающего пути межклеточной трансдифференцировки, особенности клеточного и иммунного микроокружения опухоли и его влияния на пролиферативные и регуляторные процессы аденомы.

### **3.10 Эффективность терапии каберголином у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза**

Основной метод лечения пролактин-секретирующих аденом - медикаментозный, препараты выбора – агонисты дофамина, наиболее эффективным и безопасным из которых



считается каберголин. Лечение агонистами дофамина приводит к нормализации уровня пролактина в сыворотке крови, уменьшению размера аденомы, нивелированию клинических проявлений гиперпролактинемии и масс-эффекта опухоли. Однако большая доля пациентов (около 20%) демонстрирует резистентность к терапии агонистами дофамина. Причины резистентности требуют уточнения, а подходы к ведению данной группы не вполне разработаны.

Все пациенты, включенные в исследование, получали каберголин в качестве первичного лечения. Доза каберголина значительно отличалась в группе чувствительных и резистентных пациентов. В среднем, для чувствительных пациентов доза каберголина составила 1 мг/нед, минимальная доза – 0,25 мг/нед, максимальная доза – 2,5 мг/нед, для группы резистентных пациентов – 3,5 мг/нед, минимальная доза – 3,5 мг/нед, максимальная доза – 4,5 мг/нед.

На фоне медикаментозного лечения в группе чувствительных пациентов у всех больных достигнута нормопролактинемия.

Нами проанализирована вероятность разрешения основных клинических проявлений заболевания на фоне медикаментозной терапии в обеих группах пациентов.

Критериями эффективности терапии приняты разрешение основных клинических проявлений гиперпролактинемии, уменьшение размера аденомы и нивелирование патологических проявлений масс-эффекта опухоли, восстановление репродуктивной функции, нормализация уровня пролактина в сыворотке крови.

### 3.10.1 Вероятность разрешения аменореи у пациенток с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Среди пациентов женского пола и репродуктивного возраста, чувствительных к терапии агонистами дофамина, в 100% случаев было достигнуто разрешение аменореи. При этом у резистентных пациенток нарушение цикла персистировало на фоне периода наблюдения, демонстрируя крайне низкую вероятность восстановления менструальной функции в данной группе ( $p < 0,001$ ), (таблица 10).

**Таблица 10.** Вероятность разрешения аменореи у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Восстановление менструальной функции после медикаментозного лечения	14	14 (100%)	16	1 (6%)	<0,001

### 3.10.2 Вероятность разрешения галактореи у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Вероятность разрешения галактореи у пациентов с чувствительными пролактиномами была значимо выше и составила 88%, у пациентов, резистентных к медикаментозному купированию симптома не наблюдалось, что обуславливает низкую вероятность его разрешения на фоне терапии в течение времени ( $p < 0,001$ ), (таблица 11).

**Таблица 11.** Вероятность разрешения галактореи у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Разрешение галактореи после медикаментозного лечения	16	14 (88%)	19	0 (0%)	<0,001

### 3.10.3 Вероятность восстановления либидо и потенции у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Похожая ситуация наблюдается в отношении восстановления либидо и потенции в обеих группах пациентов. Среди пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, восстановление либидо и потенции наблюдалось в 95% случаев, в группе резистентных никому не удалось восстановить половую функцию ( $p < 0,001$ ), (таблица 12).

**Таблица 12.** Вероятность восстановления либидо и потенции у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Восстановление либидо и потенции	22	21 (95%)	28	0 (0%)	<0,001

### 3.10.4 Вероятность разрешения головной боли у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

У 93% пациентов, чувствительных к медикаментозной терапии наступило разрешение головной боли.

**Таблица 13.** Вероятность разрешения головной боли у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Разрешение головной боли	28	26 (93%)	25	0 (0%)	<0,001

В случае резистентности к медикаментозной терапии вероятность разрешения головной боли составила 0%, ни у кого из включенных в исследование пациентов не наступало разрешения головной боли на фоне лечения агонистами дофамина ( $p<0,001$ ), (таблица 13).

### 3.10.5 Вероятность разрешения ожирения у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Чувствительные к терапии пациенты достигали разрешения ожирения в 85% случаев, при этом в 15% случаев восстановления нормальной массы тела не происходило. Необходимо учитывать, что гиперпролактинемия является лишь одним звеном из комплекса факторов, вносящих вклад в развитие ожирения, в связи с чем нормализация уровня пролактина в крови не обеспечивала разрешения ожирения у всех пациентов, чувствительных к лечению. При этом вероятность ответа на терапию каберголином в группе чувствительных пациентов была выше (85%), против низкой вероятности разрешения ожирения (0%) в группе пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина ( $p<0,001$ ), (таблица 14).

**Таблица 14.** Вероятность разрешения ожирения у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Разрешение ожирения	20	17 (85%)	16	0 (0%)	<0,001

### 3.10.6 Вероятность восстановления нарушений зрения у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Восстановление зрительной функции на фоне терапии агонистами дофамина у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза обусловлено уменьшением размеров аденомы, оказывающей влияние на хиазму зрительных нервов.

В группе чувствительных к терапии пациентов в 75% случаев достигнуто восстановление нарушений зрения.

У пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина, вероятность восстановления зрения составила 14% ( $p=0,007$ ), (таблица 15).

**Таблица 15.** Вероятность восстановления зрительной функции у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)		Резистентность к терапии (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Восстановление зрительной функции	8	6 (75%)	21	3 (14%)	0,007

### 3.10.7 Эффективность терапии каберголином в восстановлении репродуктивной функции у пациентов с резистентными и чувствительными формами пролактин-секретирующих аденом

Среди пациенток, чувствительных к терапии агонистами дофамина, в 100% случаев было достигнуто разрешение аменореи. При этом у резистентных пациенток нарушение цикла персистировало на фоне периода наблюдения, демонстрируя крайне низкую вероятность восстановления менструальной функции в данной группе.

При оценке вероятности возникновения беременности выявлено, что в группе пациентов, чувствительных к терапии, вероятность возникновения беременности составляет 50%, в то время как в группе резистентных пациентов данный показатель равен 0% ( $p=0,001$ ), (таблица 16).

**Таблица 16.** Вероятность наступления беременности у пациентов с пролактиномами на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина

Признак	Чувствительность (N=28)		Резистентность (N=30)		p, $\chi^2$ с поправкой Йетса
	N	n (%)	N	n (%)	
Беременность на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина	14	7 (50%)	17	0 (0%)	0,009

Проведен анализ вероятности наступления беременности в исследуемых группах пациентов на фоне медикаментозной терапии агонистами дофамина и после оперативного вмешательства в объеме трансназальной аденомэктомии.

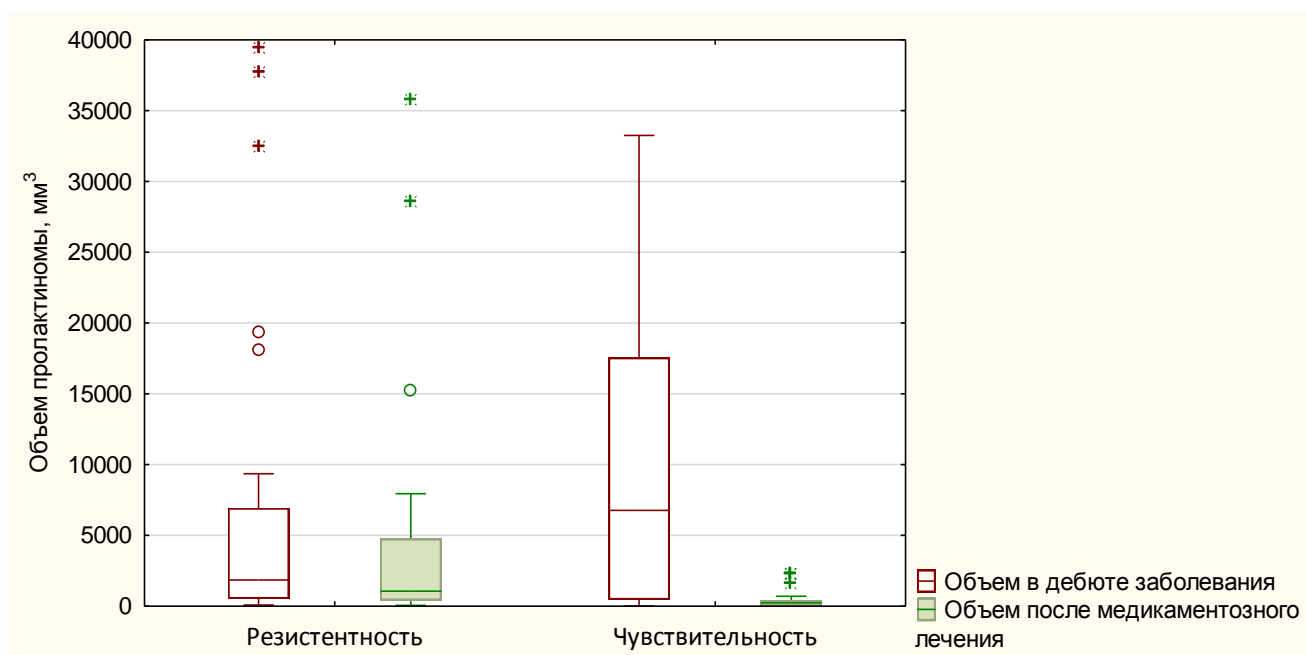
Вероятность наступления беременности в подгруппе пациенток, резистентных к терапии, в течение 78,5 месяцев [66; 87,25] с момента установления диагноза составила 60%.

3.10.8 Эффективность медикаментозной терапии в отношении антипролиферативного эффекта. Проведено сравнение размеров пролактин-секретирующей аденомы, как следствие антипролиферативного эффекта медикаментозной терапии агонистами дофамина, в дебюте заболевания и на фоне лечения. Результаты демонстрируют статистически значимое выраженное уменьшение размеров пролактиномы в случае чувствительности к терапии: объем аденомы в дебюте составил 6720 мм [472,5; 14663], на фоне лечения - 311,5 мм [30; 405] ( $p < 0,001$ ). Противоположная картина наблюдается в случае резистентности к терапии: объем пролактиномы в дебюте - 1848 мм [540; 6930], на фоне терапии агонистами дофамина размеры значимо не изменились - 1062 [432; 4750], ( $p < 0,001$ ), (таблица 17), (рисунок 18).

**Таблица 17.** Влияние медикаментозной терапии агонистами дофамина на размеры пролактиномы

Признак	Чувствительность к терапии (N=28)					Резистентность к терапии (N=30)				
	Дебют		После терапии		p, критерий Вилкоксона	Дебют		После терапии		p, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]		N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Длина, мм	26	20 [11; 35]	26	7,5 [3; 11]	<0,001	28	24 [11; 39,5]	28	8 [3; 10,5]	0,001
Ширина, мм	26	19,5 [8; 31]	26	5 [3; 8]	<0,001	28	20 [8; 33]	28	5 [3,5; 7,5]	<0,001
Высота, мм	26	22 [10; 28]	26	8 [4; 10]	<0,001	30	11 [9; 27]	30	9,5 [8; 20]	<0,001
Объем, мм <sup>3</sup>	26	6720 [472,5; 14663]	26	311,5 [30; 405]	<0,001	30	1848 [540; 6930]	30	1062 [432; 4750]	<0,001

Поправка Бонферрони  $p = 0,05/4 = 0,013$



**Рисунок 18.** Объем пролактиномы при лечении агонистами дофамина (количество чувствительных к терапии пациентов – 28; количество резистентных к терапии пациентов - 30)

### 3.10.9 Обсуждение эффективности медикаментозной терапии у пациентов с пролактиномами в отношении антипролиферативного эффекта

Терапия агонистами дофамина обладает двунаправленным эффектом - антисекреторным и антипролиферативным. Продемонстрированное в работе отсутствие уменьшения размеров аденомы на фоне лечения отражает невозможность достижения терапевтических целей в случае резистентности к терапии. Наблюдаемые изменения подчеркивают опасность пролонгирования сроков неэффективной терапии, имеющее место у данной категории пациентов. Развивающиеся негативные структурные и топографические изменения пролактиномы ограничивают перспективы использования альтернативных подходов к лечению - как медикаментозных, так и хирургических, снижают их эффективность и необратимо ухудшают качество жизни [51]; [62]; [71]; [72]. Вероятность развития осложнений, увеличивающаяся пропорционально периоду неэффективного лечения, обуславливает необходимость раннего выявления резистентности к терапии агонистами дофамина у пациентов с пролактин-секретирующими аденомами и целесообразность неординарного подхода к тактике лечения резистентных пациентов [152]; [153]; [155].

### 3.11 Эффективность оперативного лечения у пациентов с резистентными формами пролактин-секретирующих аденом

Оперативное лечение проведено 20 пациентам - 18 резистентным к терапии, 2 пациентам, чувствительным к терапии агонистами дофамина. Во всех случаях использовался трансназальный трансфеноидальный доступ. Данные представлены в таблице 17.

Среди пациентов, резистентных к терапии, в 13 случаях (72%) наблюдался выраженный положительный эффект выполненного хирургического вмешательства: в 28% (n=5) достигнута купирование заболевания с достижением нормопролактинемии без медикаментозной терапии, в 39% (n=7) случаев полная компенсация заболевания поддерживалась на фоне приема меньших доз агонистов дофамина, в 6% (n=1) случаев также достигнута нормализация уровня пролактина в сыворотке крови, но на фоне приема больших доз препарата. В 28% (n=5) случаев компенсации заболевания после проведенного хирургического лечения не наблюдалось. Это было обусловлено невозможностью радикального удаления аденомы в связи с большими размерами и сложным топографическим расположением опухоли, возникшими в связи с длительной персистенцией аденомы на фоне неэффективности терапии агонистами дофамина. Все пациенты, не достигшие эффекта от операции, имели аденомы размерами более 10 мм. Летального исхода оперативного лечения не было ни в одном случае.

Радикальность проведения оперативного вмешательства оценивалась по уровню пролактина в сыворотке крови в раннем послеоперационном периоде. При достижении нормализации уровня пролактина или его снижении ниже референсных значений операция расценивалась как радикальная. Радикальность оперативного лечения отмечена в 67% случаев (n=12). В 33% (n=8) ее достижение было невозможно, при этом все пациенты относились к группе резистентных к терапии агонистами дофамина и имели пролактин-секретирующие аденомы размерами более 10 мм.

Показатели радикальности хирургического вмешательства коррелируют с данными о сохранении остаточной ткани аденомы гипофиза – ее наличие определялось только в случаях нерадикальности проведенной операции (33% случаев, n=8). Данные представлены в таблице 18 и на рисунке 19.

**Таблица 18.** Результаты оперативного лечения у пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина

Признак		Прооперированные пациенты с резистентными формами пролактин-секретирующих аденом (N = 18)	
		N	n (%)
Результат операции	Излечение	18	5 (28%)
	Медикаментозный контроль на меньших дозах		7 (39%)
	Медикаментозный контроль на больших дозах		1 (6%)
	Отсутствие медикаментозного контроля		5 (28%)
Наличие осложнений после операции		18	4 (22%)
Наличие неврологических осложнений		11	0 (0%)
Нарушение функции гипофиза	Отсутствуют	11	7 (64%)
	Частичная		4 (36%)
	Пангипопитуитаризм		0 (0%)
	Пангипопитуитаризм и несахарный диабет		0 (0%)
	Несахарный диабет		0 (0%)
Наличие зрительных нарушений после операции		11	0 (0%)
Радикальность операции		18	12 (67%)
Наличие остаточной ткани после операции		18	6 (33%)



**Рисунок 19.** Результаты оперативного лечения у пациентов, резистентных к терапии агонистами дофамина



### 3.11.1 Осложнения оперативного лечения у пациентов с резистентными формами пролактин-секретирующих аденом

Осложнения после проведенного хирургического лечения наблюдались в 4 случаях (22% всех пациентов, перенесших аденомэктомию). Все пациенты имели пролактин-секретирующие макроаденомы гипофиза размерами более 10 мм. В структуре осложнений превалировал частичный гипопитуитаризм – 100% (4 случая). Ни в одном случае оперативного лечения не отмечено возникновения пангипопитуитаризма, послеоперационного несахарного диабета, зрительных и неврологических нарушений.

**Таблица 19.** Анализ послеоперационного эффекта и характера ответа на медикаментозную терапию

Признак	Чувствительность к терапии		Резистентность к терапии		p*
	N	n (%)	N	n (%)	
Излечение	2	0 (0%)	18	5 (28%)	-
Медикаментозный контроль на меньших дозах	2	2 (100%)	18	7 (39%)	-
Медикаментозный контроль на больших дозах	2	0 (0%)	18	1 (5%)	-
Отсутствие медикаментозного контроля	2	0 (0%)	18	5 (28%)	-

Поправка Бонферрони  $p=0,05/4=0,013$

\* - точный критерий Фишера

По данным анализа статистически значимой ассоциации статуса чувствительности к терапии агонистами дофамина, топографо-морфологических особенностей пролактин-секретирующих аденом гипофиза и возникновения послеоперационных осложнений, а также эффективности контроля заболевания после операции установлено не было, данные отражены в таблицах 19 и 20. Отсутствие связи исследуемых признаков может быть отражением малого количества случаев осложнений оперативного вмешательства в нашем исследовании (таблица 20).

**Таблица 20.** Анализ возникновения послеоперационных осложнений и характера ответа на медикаментозную терапию

Признак		Послеоперационные осложнения есть		Послеоперационных осложнений нет		p
		N	n (%)	N	n (%)	
Группа	чувствительность	6	2 (33%)	14	0 (0%)	0,003 <sup>1</sup>
	резистентность		4 (67%)		14 (100%)	
Размер аденомы	Макроаденома	6	2 (33%)	14	1 (7%)	0,202 <sup>1</sup>
	микроаденома		4 (67%)		13 (93%)	
Инвазивность по KNOSP	Нет инвазии	6	2 (33%)	14	1 (7%)	0,278 <sup>1</sup>
	1		0 (0%)		0 (0%)	

	2		0 (0%)		2 (14%)	
	3		0 (0%)		4 (29%)	
	4		4 (67%)		7 (50%)	
Инвазия обоих синусов		6	3 (50%)	14	8 (57%)	0,845 <sup>2</sup>
Параселлярное распространение		6	4 (67%)	14	13 (93%)	0,202 <sup>1</sup>
Супраселлярное распространение		6	6 (100%)	14	13 (93%)	0,700 <sup>1</sup>
Эндоселлярное распространение		6	6 (100%)	14	14 (100%)	-
Ретроселлярное распространение		6	1 (17%)	14	0 (0%)	0,300 <sup>1</sup>
Инфраселлярное распространение		6	0 (0%)	14	1 (7%)	1,000 <sup>1</sup>

Поправка Бонферрони  $p=0,05/9=0,006$

1 – точный критерий Фишера

2 - хи-квадрат с поправкой Йетса

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

По результатам сравнительного анализа выделены факторы, отличающие группу пациентов, чувствительных к терапии агонистами дофамина, от группы резистентных пациентов. Выявлены статистически значимые различия таких характеристик пролактин-секретирующих аденом, как инвазивность аденомы, ее параселлярный характер распространения, наличие кистозного компонента, нивелирование симптомов после медикаментозного лечения: восстановление менструальной функции, разрешение галактореи, восстановление либидо и потенции, разрешение головной боли, разрешение ожирения, восстановление зрительной функции. С целью прогнозирования вероятности резистентности к терапии и выделению «группы риска» по наличию резистентности к медикаментозной терапии среди общей выборки пациентов с пролактиномами, для последующего проведения им фармакодинамической пробы и уточнения статуса чувствительности к терапии, использована модель бинарного выбора — логистическая регрессия. При работе с моделью часть статистически значимо отличающихся характеристик была исключена, как относящаяся к результатам лечения, что не соответствует цели построения указанной модели. Таким образом, при построении использованы следующие характеристики: инвазивность аденомы по KNOSP (0 – инвазия отсутствует, 1 степень, 2 степень, 3 степень, 4 степень), параселлярный характер распространения аденомы (0 – нет, 1 – да), наличие кистозного компонента (0 – нет, 1 – да). В качестве отклика (прогнозируемого признака) использовался ответ на терапию: чувствительность или резистентность. Размер выборки составил 58 пациентов (чувствительных пациентов – 28, резистентных – 30). В результате было получено уравнение логистической регрессии:

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

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

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

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

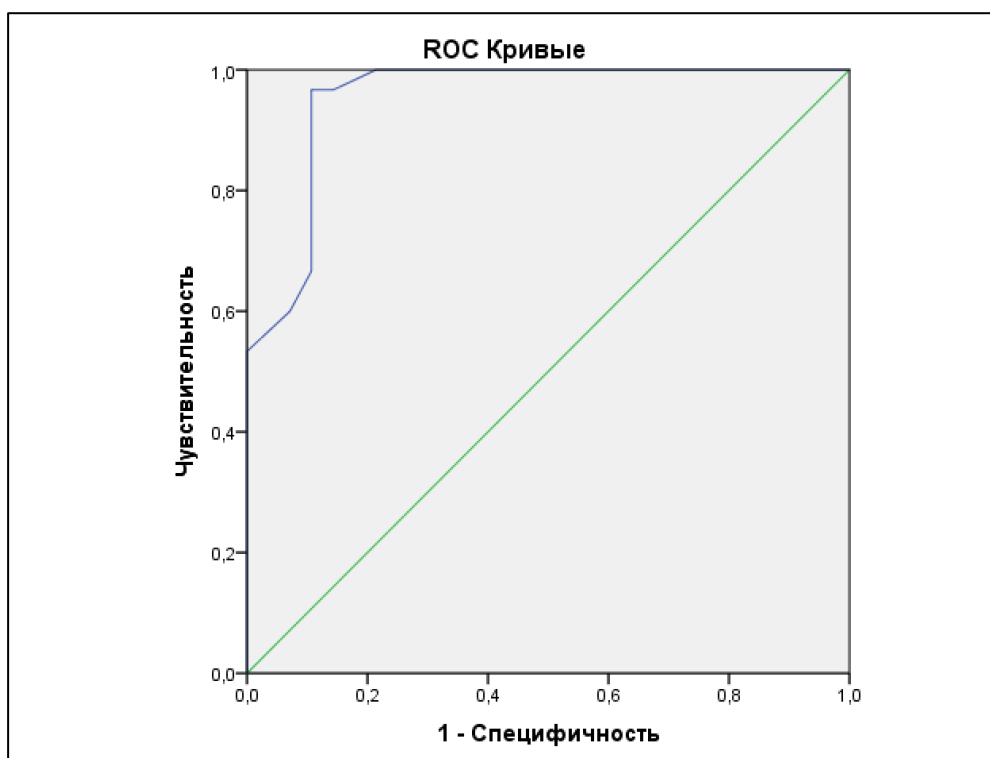
Матрица классификации чувствительных и резистентных к терапии пациентов с использованием полученной модели представлена в таблице 21.

**Таблица 21.** Матрица классификации модели логистической регрессии

		Результат исследования	
		Резистентность к терапии	Чувствительность к терапии
<b>Результат предсказания моделью</b>	Резистентность к терапии	29	1
	Чувствительность к терапии	3	25

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

Для графического изображения диагностической способности модели построена ROC-кривая (рисунок 20), которая отображает чувствительность и специфичность модели логистической регрессии. Площадь под кривой составила  $AUC = 0,954$ .



**Рисунок 20.** ROC-анализ модели логистической регрессии

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

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

В мировой медицинской практике отсутствует единый алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующими аденомами, резистентными к терапии. В настоящее время тактика ведения пациентов с гиперпролактинемией при пролактин-секретирующей аденоме гипофиза предполагает непрерывную медикаментозную терапию агонистами дофамина на протяжении не менее 6 месяцев, вне зависимости от достигаемого клинического и лабораторного ответа. При этом, пролонгирование срока неэффективной терапии обуславливает персистенцию негативных патологических симптомов заболевания и снижение вероятности их разрешения [163]; [164]; [166]; [168]. Кроме того, безрезультатное лечение при резистентности к терапии способствует возникновению отрицательных топографо-анатомических изменений аденомы гипофиза,

осложняет выполнение хирургического вмешательства и увеличивает вероятность возникновения послеоперационных осложнений [83]; [126]; [130]; [150]; [151].

С целью разработки подхода к определению тактики и персонализации лечения пациентов с пролактиномами, включающего определение статуса чувствительности к агонистам дофамина проведен анализ применения двухэтапного фармакодинамического каберголин-гидроксихлорохинового теста.

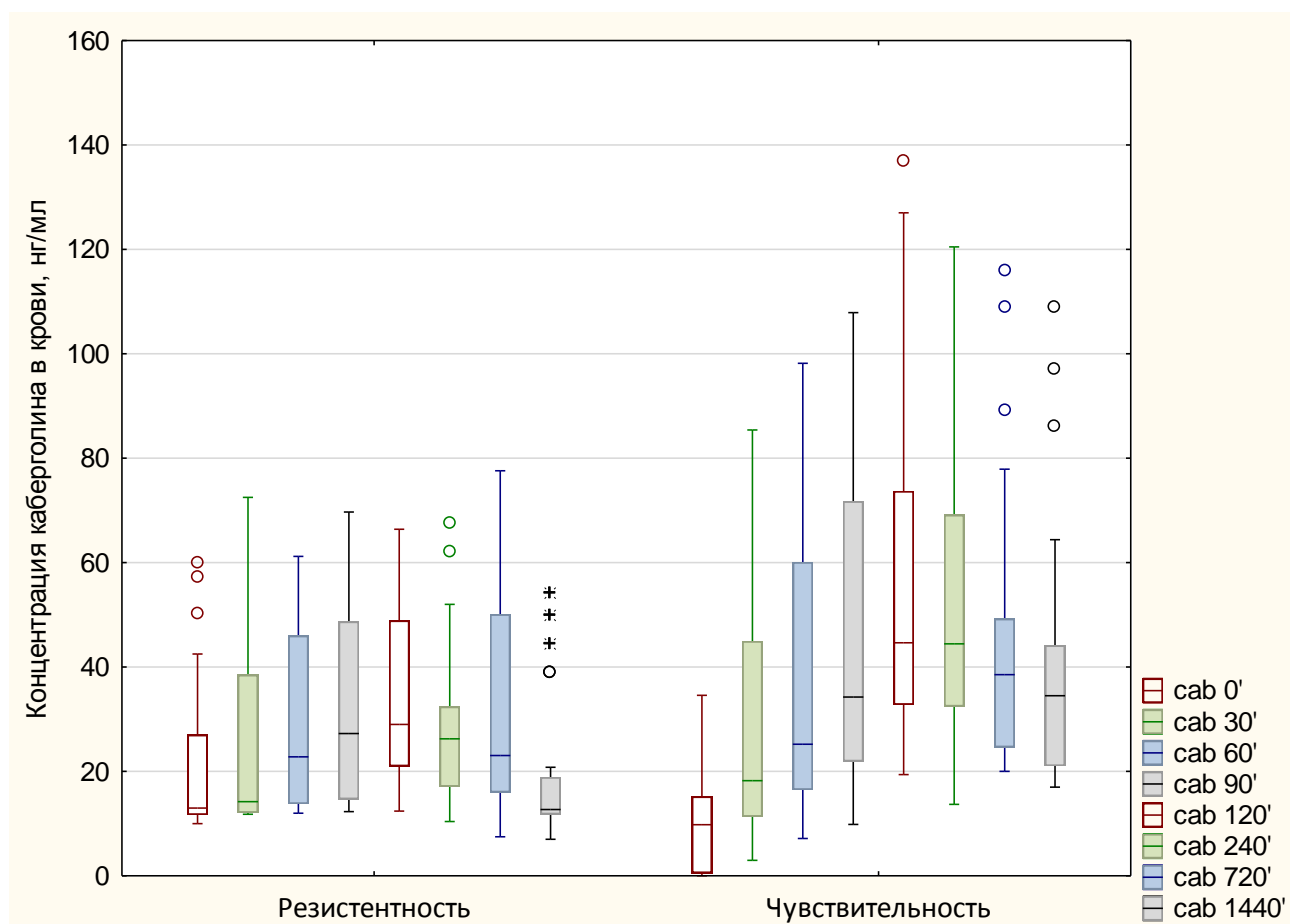
В нулевой точке теста отмечены разнородные показатели каберголина, причем медиана концентрации каберголина у резистентных пациентов выше, чем у чувствительных к терапии пациентов. Причиной этого является длительный ( $T_{1/2}$  63-109 ч) период полувыведения каберголина, даже после отмены приема препарата следовые концентрации вещества сохраняются в сыворотке крови в течение 30 дней. Большинство пациентов, включенных в исследование, на протяжении длительного времени получают терапию каберголином, одномоментная отмена которой небезопасна. Однако, влияние этого ограничения полностью устраняется уже к 30-й минуте проведения 1 этапа пробы. Выявлены значимые отличия концентрации каберголина у чувствительных и резистентных к терапии пациентов, проявляющиеся с 30-й минуты исследования, данные представлены в таблице 22 и на рисунке 21. Впоследствии различия в концентрации каберголина сохраняются между двумя группами пациентов на протяжении времени, достигая максимальной, статистически значимой выраженности к 120-й и 240-й минутам. Таким образом, маркерными временными точками, которые могут быть использованы для дифференцировки чувствительности пациентов к терапии являются 120-я и 240-я минуты.

**Таблица 22.** Описание и сравнение концентраций каберголина в двух группах по исследуемым точкам на 1 этапе пробы

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

Cab – каберголин

Поправка Бонферрони  $p=0,05/8=0,006$



**Рисунок 21.** Сравнение концентраций каберголина в двух группах по исследуемым точкам на 1 этапе пробы

Также отмечены статистически значимые отличия степени прироста концентрации каберголина в ходе проведения 1 этапа пробы между группами чувствительных и резистентных к терапии пациентов: в случае чувствительности к терапии процент прироста составил 794 [370; 8475], в случае резистентности - лишь 91% [59; 152] ( $p < 0,001$ ). Продemonстрирована выраженная статистически значимая разница между показателями продолжительности плато концентрации каберголина в двух группах пациентов: в группе чувствительности к терапии - 690 минут [600; 690], в группе резистентности - 60 [30; 360] ( $p < 0,001$ ). Указанные данные отражены в таблице 23.

**Таблица 23.** Фармакодинамический профиль чувствительных и резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов

#### Проба 1

Признак	Чувствительность		Резистентность		p, U-test
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Процент прироста концентрации каберголина, %	28	794 [370; 8475]	30	91 [59; 152]	<0,001

Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл	28	45,45 [35,5; 77,3]	30	37,9 [22,7; 62,5]	0,039
Минимальная концентрация каберголина, пг/мл	28	10,75 [3,65; 16]	30	12,65 [11,8; 18,9]	0,011
Время пика каберголина, мин	28	120 [90; 120]	30	120 [90; 240]	0,969
Средняя концентрация каберголина, пг/мл	28	24,5 [19; 50]	30	21 [16; 39]	0,323
Продолжительность плато концентрации каберголина, мин	28	690 [600; 690]	30	60 [30; 360]	<0,001
Время начала снижения концентрации каберголина, мин	28	720 [720; 720]	30	240 [120; 720]	0,004
Процент убыли концентрации каберголина, %	28	-11,8 [-14,75; -10,7]	30	-52 [-60; -38]	<0,001

Поправка Бонферрони  $p=0,05/8=0,006$

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

Продемонстрированы выраженные, статистически значимые различия уровня пролактина в сыворотке крови до 1 этапа пробы и после его завершения между группами чувствительных и резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов. Медиана уровня пролактина в крови до пробы среди чувствительных пациентов составила 1917,8 мЕд/л [506,5; 6616], в группе резистентных к терапии пациентов - 4108 [2208; 9208] ( $p=0,048$ ). После завершения пробы с каберголином медиана уровня пролактина в крови у чувствительных пациентов – 609,5 [201; 3000], у резистентных пациентов – 3800 [2000; 7800] ( $p=0,001$ ). Данные указаны в таблицах 24 и 25.

**Таблица 24.** Сравнение групп чувствительных и резистентных пациентов по уровню пролактина в сыворотке крови в ходе 1 этапа пробы с каберголином

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

Поправка Бонферрони  $p=0,05/2=0,025$

**Таблица 25.** Сравнение внутри групп чувствительных и резистентных пациентов по уровню пролактина в сыворотке крови в ходе 1 этапа пробы с каберголином

Признак	Чувствительность					Резистентность				
	До пробы		После пробы		p, критерий Вилкоксона	До пробы		После пробы		p, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]		N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Пролактин, мМе/л	28	1917,5 [506,5; 6616]	28	609,5 [201; 3000]	<0,001	30	4108 [2208; 9208]	30	3800 [2000; 7800]	<0,001

Поправка Бонферрони  $p=0,05/2=0,025$

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

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

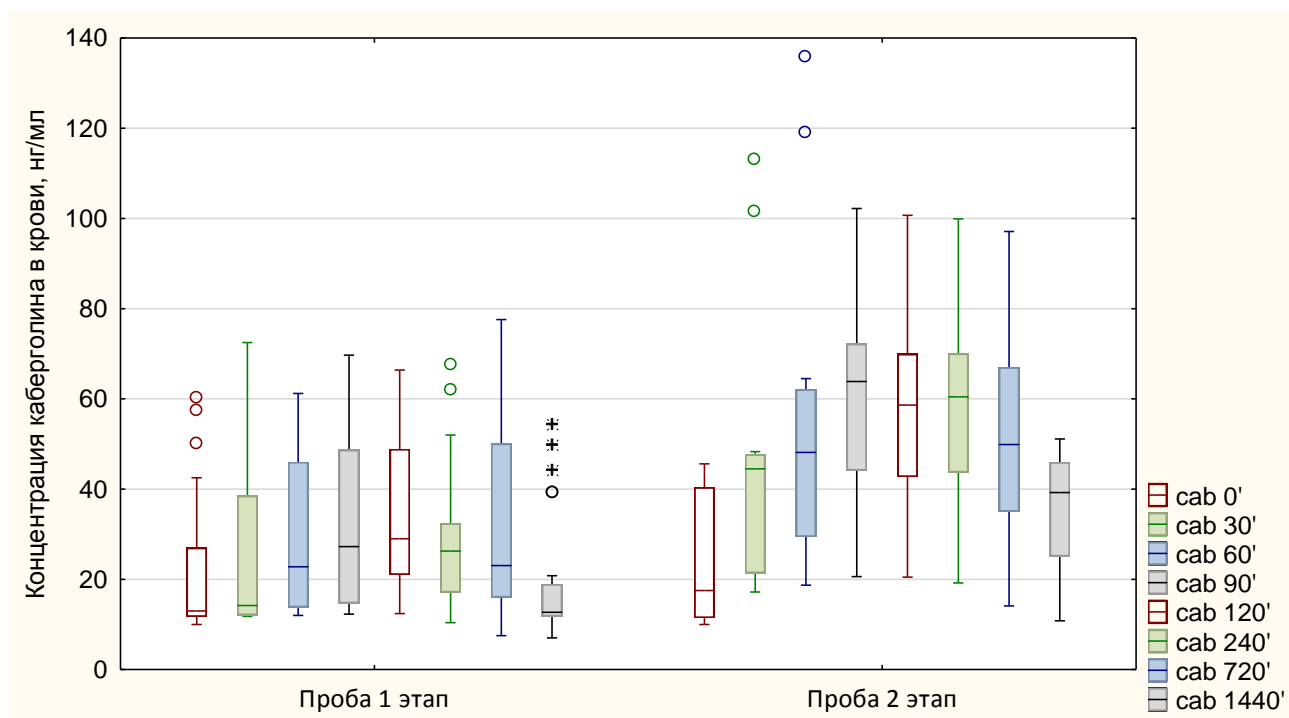
**Таблица 26.** Сравнение фармакодинамических показателей на первом и втором этапе пробы в группе пациентов, резистентных к терапии

Признак	Первый этап		Второй этап		p, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Процент прироста концентрации каберголина, %	20	91 [39,5; 152]	20	246,5 [55,5; 365]	0,002
Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл	20	36,5 [24,7; 65,1]	20	65,9 [52,7; 74,1]	<0,001
Минимальная концентрация каберголина, пг/мл	20	12,65 [11,8; 29,95]	20	40,35 [25; 45,95]	0,004



Время пика каберголина, мин	20	120 [90; 120]	20	90 [90; 120]	0,109
Средняя концентрация каберголина, пг/мл	20	21,0 [16,0; 42,1]	20	47 [37; 60]	0,001
Продолжительность плато концентрации каберголина, мин	20	60 [45; 360]	20	690 [435; 690]	0,001
Время начала снижения концентрации каберголина, мин	20	240 [120; 720]	20	720 [480; 720]	0,005
Процент убыли концентрации каберголина, %	20	-50 [-58; -31,5]	20	-39 [-55; -36,75]	0,478

Поправка Бонферрони  $p=0,05/8=0,006$



**Рисунок 22.** Сравнение концентрации каберголина в сыворотке крови пациентов, резистентных к терапии, на первом и втором этапе пробы

Продemonстрированы статистически значимые отличия ключевых фармакодинамических показателей в ходе 2 этапа пробы: выраженное увеличение прироста концентрации каберголина в сыворотке крови пациентов с закономерным увеличением показателей его максимальной и средней концентрации, значительное увеличение продолжительности плато концентрации препарата в крови.

Выполнен анализ статистической значимости разницы показателей каберголина между каждой из исследуемых точек пробы, по результатам которого подтверждена целесообразность использования точек, определенных на первом этапе пробы, как диагностически значимые. Наибольшая диагностическую ценность на 2 этапе пробы продемонстрированы в точках 240 и 720 минута.

Выполнен сравнительный анализ концентраций каберголина в сыворотке крови по каждой из исследуемых точек фармакодинамической пробы. Показаны статистически значимые отличия показателей в точках, подтвержденных на первом этапе пробы как диагностически значимые: на 120 и 240 минутах пробы, а также 720 минуте пробы. Данные отражены в таблицах 26 и 27 и на рисунке 22.

**Таблица 27.** Сравнение точек каберголина у резистентных в первом и во втором этапе

Признак	Первый этап		Второй этап		Р, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Cab 0'	20	16,45 [11,7; 30,9]	20	17,5 [11,45; 40,4]	0,744
Cab 30'	20	19,6 [12,1; 45,4]	20	44,5 [21,4; 47,7]	0,017
Cab 60'	20	27,0 [13,8; 48,75]	20	48,15 [29,45; 62,1]	<0,001
Cab 90'	20	29,6 [14,55; 52,15]	20	63,85 [44,15; 72,2]	<0,001
Cab 120'	20	36,5 [21; 58]	20	58,65 [42,7; 69,95]	<0,001
Cab 240'	20	27,05 [17,75; 46,45]	20	60,45 [43,7; 70,05]	<0,001
Cab 720'	20	23,05 [16,0; 43,9]	20	49,9 [35,0; 67,0]	0,002
Cab 1440'	20	12,7 [11,8; 29,95]	20	39,25 [25,1; 45,95]	0,005

Поправка Бонферрони  $p=0,05/8=0,006$

Cab – каберголин

Продемонстрированы выраженные статистически значимые положительные изменения уровня пролактина до и после 2 этапа пробы в группе резистентных пациентов, подтверждающие эффективность комбинированной терапии. Указанные данные представлены в таблице 28.

**Таблица 28.** Сравнение уровня пролактина в сыворотке крови до и после пробы в группе пациентов, резистентных к терапии

Признак	Этап 1		Этап 2		Р, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Пролактин до пробы	20	2750 [1796; 9504]	20	2100 [1396; 7800]	<0,001
Пролактин после пробы	20	2485 [1738; 8650]	20	1185 [735; 5480]	<0,001

Поправка Бонферрони  $p=0,05/2=0,025$

На основании полученных данных выявлено 4 фармакодинамических паттерна, присущих пациентам с резистентностью к терапии. Показано, что обнаружение любого из них свидетельствует о наличии у пациента резистентности. Необходимо отметить, что каждый из паттернов диктует необходимость применения определенного алгоритма персонализированной

терапии. Данные, характерные для четырех фармакодинамических типов представлены в соответствующих таблицах (таблицы 29-32).

**Таблица 29.** Фармакодинамические показатели для группы 1: «Отсутствие всасывания»

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

Лабораторные маркеры паттерна 1:

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

**Таблица 30.** Фармакодинамические показатели для группы 2: «Пик и спад»

Признак	Первый этап		Второй этап		Р, критерий Вилкоксона
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
Процент прироста концентрации каберголина, %	7	152 [98; 152]	7	185 [60; 250]	0,398
Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл	7	53,6 [26,7; 64,4]	7	72,4 [42,8; 79,9]	0,018
Минимальная концентрация каберголина, пг/мл	7	12,7 [10,8; 19,3]	7	48,5 [27; 48,5]	0,018
Время пика каберголина, мин	7	120 [120; 120]	7	90 [90; 90]	0,018
Средняя концентрация каберголина, пг/мл	7	29 [16; 39]	7	60 [30; 60]	0,018

Продолжительность плато концентрации каберголина, мин	7	60 [30; 60]	7	690 [690; 690]	0,018
Время начала снижения концентрации каберголина, мин	7	120 [120; 240]	7	720 [720; 720]	0,018
Процент убыли концентрации каберголина, %	7	-81 [-101; -54]	7	-33 [-40; -33]	0,018

Лабораторные маркеры паттерна 2:

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

**Таблица 31.** Фармакодинамические показатели для группы 3: «Низкий пик»

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

Лабораторные маркеры паттерна 3:

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

**Таблица 32.** Фармакодинамические показатели для группы 4: «Поздний пик»

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

Лабораторные маркеры паттерна 4:

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

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

Метод выбора лечения гиперпролактинемии – медикаментозный, препарат выбора первой линии – каберголин. В настоящее время, в соответствии с зарубежными и отечественными рекомендациями по ведению пациентов с гиперпролактинемией, прежде, чем менять тактику лечения, необходимо продолжать лечение на протяжении не менее 6 месяцев. При этом известно, что в случае резистентности к терапии пролактин-секретирующие аденомы демонстрируют

признаки «агрессивности»: высокие темпы увеличения размеров аденомы, инвазивный характер роста, склонность к параселлярному и супраселлярному росту [39, 92, 136]. Указанные неблагоприятные изменения являются причиной ряда негативных последствий:

- высокие темпы увеличения размеров аденомы обуславливают масс-эффект опухоли и связанный с этим гипопитуитаризм, а также сдавление окружающих структур головного мозга, в том числе черепно-мозговых нервов;
- инвазивный характер и параселлярное распространение пролактин-секретирующей аденомы определяют большую сложность аденомэктомии, снижают вероятность ее радикального удаления и повышают риск рецидива после оперативного вмешательства [62, 110];
- склонность к супраселлярному росту обуславливает возникновение хиазмального синдрома и угрозу необратимой потери зрения.

Пролонгирование периода неэффективного медикаментозного лечения приводит как к прогрессированию имеющихся нарушений, обусловленных гиперпролактинемией, так и к увеличению риск возникновения описанных топографо-анатомических изменений аденомы гипофиза. Таким образом, важно на раннем диагностическом этапе выявить резистентность к терапии агонистами дофамина с целью незамедлительного определения оптимальной персонализированной тактики лечения.

По данным проведенной работы показано, что диагностически значимыми для определения резистентности к терапии точками пробы с каберголином являются значения концентрации каберголина в сыворотке крови на 120-ой и 240-ой минутах исследования. В ходе исследования выявлено 4 варианта патологических паттернов фармакодинамической кривой каберголина, каждый из которых обладает прогностическим потенциалом в отношении изменения тактики лечения.

### **Обсуждение группы 1 «Отсутствие всасывания».**

Пациенты резистентны в соответствии с диагностическими маркерами: отмечается низкий процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови (медиана - 17% на 1 этапе пробы), недостаточная продолжительность плато концентрации препарата (медиана – 30 мин на 1 этапе пробы).

Обращает внимание отсутствие положительной динамики показателей на втором этапе пробы: незначительное увеличение процента прироста концентрации каберголина в сыворотке крови (медиана 51%), сохраняющаяся низкая продолжительность плато концентрации препарата (медиана 180 минут).

Предлагаемый алгоритм лечения: малая вероятность эффективности комбинированной терапии

и нецелесообразность ее назначения. Для данной группы пациентов может быть рекомендована конверсия в сторону хирургического лечения или применение лучевой терапии.

### **Обсуждение группы 2 «Пик и спад».**

Пациенты резистентны в соответствии с диагностическими маркерами: отмечается недостаточный процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови (медиана - 152% на 1 этапе пробы), низкая продолжительность плато концентрации препарата (медиана – 60 мин на 1 этапе пробы). Примечательны характерные фармакодинамические особенности данной группы пациентов на 1 этапе пробы: у пациентов практически отсутствует плато концентрации каберголина в крови: время пика препарата (медиана – 120 минут), совпадает с временем начала снижения его концентрации (медиана – 120 минут). При этом, при проведении 2 этапа пробы отмечена положительная динамика данных показателей: выраженное увеличение продолжительности плато концентрации каберголина (медиана – 690 минут), увеличение процента прироста концентрации препарата в крови (медиана – 185%).

Предлагаемый алгоритм лечения: учитывая коррекцию измененных фармакодинамических характеристик данной группы пациентов на фоне проведения комбинированной терапии (каберголин + гидроксихлорохин), ее назначение целесообразно. Для поддержания стабильной концентрации препарата в крови может быть рекомендовано увеличение кратности приема препарата в рамках еженедельной терапии.

### **Обсуждение группы 3 «Низкий пик».**

Пациенты резистентны в соответствии с диагностическими маркерами: процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови недостаточен (медиана - 100% на 1 этапе пробы), также отмечается низкая  $C_{max}$  препарата в крови (медиана – 27 пг/мл на 1 этапе пробы). При этом, при проведении 2 этапа пробы выявлена выраженная положительная динамика фармакодинамических показателей: увеличение процента прироста концентрации (медиана 365%), увеличение  $C_{max}$  (медиана – 54 пг/мл). Кроме того, обращает внимание увеличение минимальной концентрации каберголина в крови (медиана 31 пг/мл), что также является косвенным показателем коррекции фармакодинамических изменений, характерных для данной группы пациентов.

Предлагаемый алгоритм лечения: учитывая положительную динамику фармакодинамических параметров на фоне проведения комбинированной терапии (каберголин + гидроксихлорохин), ее назначение в данной группе пациентов целесообразно. Возможна эскалация дозы каберголина до максимально допустимой с возможной интенсификацией терапии путем добавления короткодействующего агониста дофамина – бромокriptина.

#### **Обсуждение группы 4 «Поздний пик».**

Пациенты резистентны в соответствии с диагностическими маркерами: процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови низкий (медиана - 84% на 1 этапе пробы), особое внимание обращает отсроченное наступление пика концентрации каберголина (медиана – 720 минут на 1 этапе пробы), а также недостаточная продолжительность плато концентрации препарата (медиана – 360 мин на 1 этапе пробы).

Выявленные фармакодинамические изменения скорректированы при проведении 2 этапа пробы, в первую очередь отмечается значительно более раннее наступление пика концентрации каберголина в крови (медиана 75 минут), удлинение периода плато концентрации препарата (медиана 690 минут), кроме того увеличен процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови (медиана - 366%), достигнута большая  $C_{max}$  (медиана 92 пг/мл), минимальная концентрация также увеличилась (медиана 39 пг/мл).

Предлагаемый алгоритм лечения: использование комбинированной терапии в рассматриваемой группе пациентов демонстрирует достижение выраженной положительной динамики ключевых фармакодинамических параметров, что свидетельствует о потенциальной эффективности данной терапии и целесообразности ее назначения. С целью поддержания стабильной концентрации препарата в крови, режим приема каберголина может быть изменен путем увеличения кратности приема препарата в рамках еженедельной терапии.

#### **3.15 Практическое внедрение: клинические примеры использования пробы для оценки статуса чувствительности к каберголину и определения тактики лечения на**

##### **основании полученных данных**

##### **Клинический случай № 1**

Пациентка К. 27 лет, обратилась с жалобами на нарушение регулярности менструального цикла в виде олигоменореи, постоянную болезненность в области молочных желез, появление выделений молочного вида. По данным лабораторного обследования выявлена гиперпролактинемия: уровень пролактина 5670 мЕд/л, фракция макропролактина - 11%.

Проведена МРТ головного мозга - выявлена кистозно-солидная аденома гипофиза размерами 8х12х7 мм, хиазма зрительных нервов интактна. Согласно осмотру офтальмолога с периметрией нарушения полей зрения отсутствуют. Семейный анамнез относительно опухолевых образований гипофиза не отягощен. Признаков гиперсекреции прочих гормонов гипофиза не выявлено: ТТГ 2,1 мМЕ/л, Т4 св. 13,4 пмоль/л, кортизол в слюне вечером 1,8 нмоль/л, кортизол в суточной моче 189 нмоль/сут, ИФР-1 211 нг/мл, ЛГ 5,1 Ед/л, ФСГ 8,3 Ед/л. Установлен диагноз: Пролактин-секретирующая макроаденома гипофиза, опухолевая гиперпролактинемия. До инициации лечения агонистами дофамина принято решение о



проведении двухэтапной пробы для оценки чувствительности к терапии и определения тактики лечения. Полученные в ходе пробы параметры представлены в таблице.

**Таблица 33.** Пациентка К., фармакодинамический профиль

Параметр	Этап 1	Этап 2
Процент прироста концентрации каберголина, %	1200	1500
Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл	83	108
Минимальная концентрация каберголина, пг/мл	11	21
Время пика каберголина, мин	120	90
Средняя концентрация каберголина, пг/мл	45	57
Продолжительность плато концентрации каберголина, мин	690	690
Время начала снижения концентрации каберголина, мин	720	720
Процент убыли концентрации каберголина, %	-85	-93

### Обсуждение клинического случая № 1

Фармакодинамический профиль пациентки К. соответствует чувствительности к терапии, о чем свидетельствуют соответствующие диагностические маркеры: отмечается высокий процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови (медиана - 1200% на 1 этапе пробы), достаточная продолжительность плато концентрации препарата (медиана – 690 мин на 1 этапе пробы). При проведении 2 этапа пробы отмечается тенденция к положительной динамике ключевых параметров метаболизма каберголина.

Таким образом, учитывая чувствительность пациентки, определенную в ходе проведения пробы, принято решение о инициации терапии каберголином 0,5 мг в дозе 0,25 мг 2 раза в неделю. Через 1 месяц выполнен контрольный анализ крови, пролактин – 2564 мМЕ/мл, в течение последующих 2 месяцев проведена титрация дозы препарата до 0,5 мг 2 раза в неделю, на фоне которой достигнута стабильная нормопролактинемия. По данным МРТ головного мозга через 6 месяцев – положительная динамика в виде уменьшения размеров аденомы гипофиза до 5х7х6 мм. Отмечено восстановление регулярного менструального цикла.

### Клинический случай № 2

Пациент С., 31 год, обратился для определения оптимальной тактики лечения. Из анамнеза известно, что около 2,5 лет назад возникли нарушения половой сферы: снизилось либидо, возникли эректильные нарушения, появились эпизоды головной боли с частотой 3-4 раза в неделю, увеличилась масса тела на 5 кг за 1 месяц, с последующим увеличением с 75 кг до 98 кг

за 2,5 года. В рамках проведенного обследования установлено наличие пролактин-секретирующей макроаденомы гипофиза, размерами 14x12x9 мм, уровень пролактина в сыворотке крови в дебюте заболевания 2300 мЕд/л. Назначена терапия каберголином с постепенной титрацией дозы до 7,5 мг в неделю, на момент включения в исследование терапия продолжалась в течение 2 лет. На фоне лечения агонистами дофамина, несмотря на комплаентность пациента, компенсации гиперпролактинемии, а также положительной динамики в отношении жалоб пациента достичь не удалось - пролактин в сыворотке крови на момент включения в исследование - 2670 мЕд/л, отрицательная динамика размеров аденомы - 15x11x10 мм, отмечалось сохранение клинических признаков, ставших причиной для первичного обращения в медицинское учреждение. Для определения тактики лечения, оценки целесообразности дальнейшего увеличения дозы агонистов дофамина выполнена двухэтапная проба с каберголином. Полученные в ходе пробы параметры представлены в таблице.

**Таблица 34.** Пациент С., фармакодинамический профиль

Параметр	Этап 1	Этап 2
Процент прироста концентрации каберголина, %	110	90
Максимальная концентрация каберголина в сыворотке крови, пг/мл	19	21
Минимальная концентрация каберголина, пг/мл	11	13
Время пика каберголина, мин	120	110
Средняя концентрация каберголина, пг/мл	11	12
Продолжительность плато концентрации каберголина, мин	690	690
Время начала снижения концентрации каберголина, мин	720	720
Процент убыли концентрации каберголина, %	-20	-24

### Обсуждение клинического случая № 2

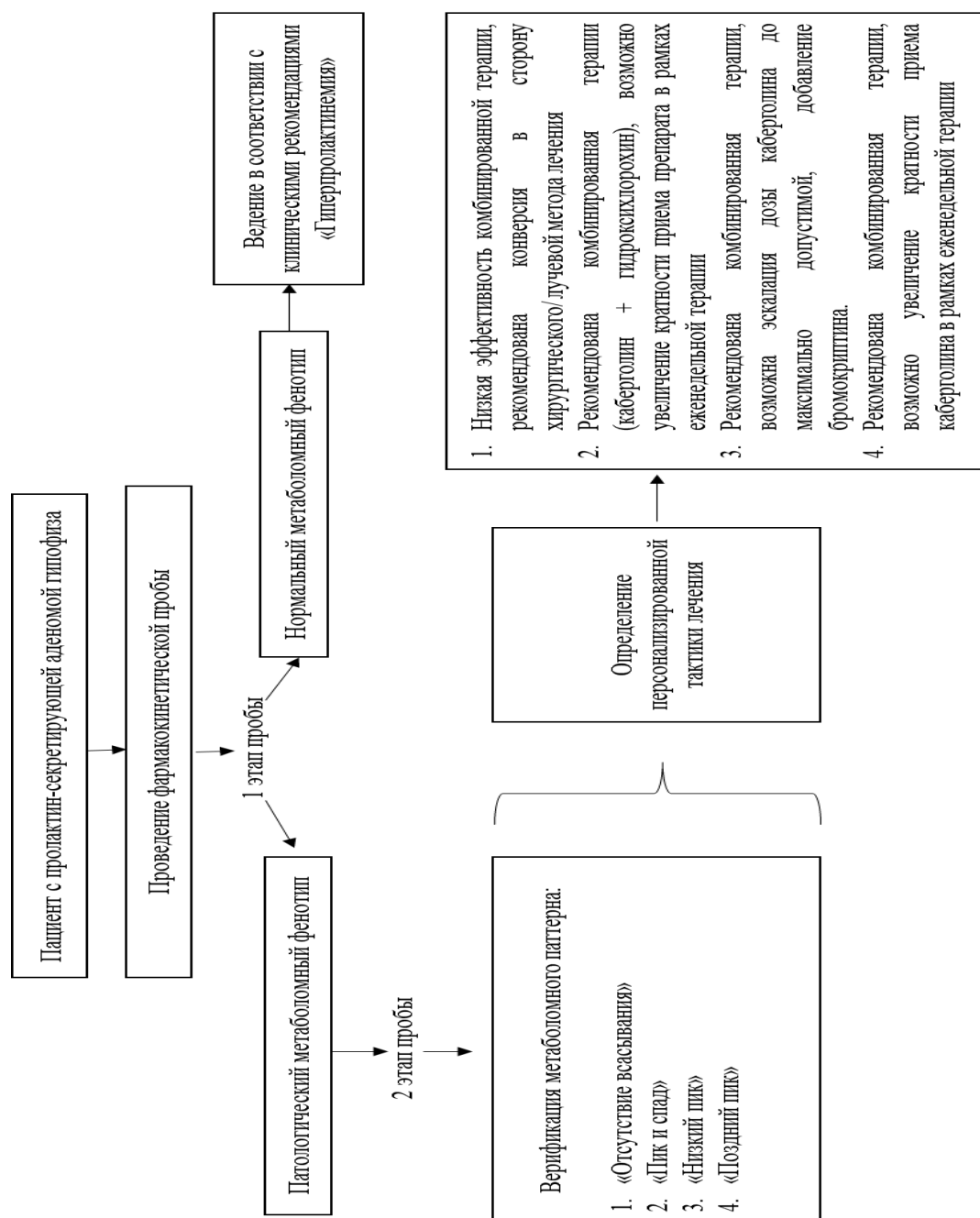
Пациент резистентен к терапии агонистами дофамина в соответствии с диагностическими маркерами: процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови недостаточен (медиана - 110% на 1 этапе пробы), также отмечается низкая  $C_{max}$  препарата в крови (медиана – 19 пг/мл на 1 этапе пробы). При этом, при проведении 2 этапа пробы положительной динамики фармакодинамических показателей не достигнуто: процент прироста концентрации сохраняется низким (медиана 90%),  $C_{max}$  также недостаточна (медиана – 21 пг/мл).

Таким образом, данные свидетельствуют о низком терапевтическом потенциале медикаментозной терапии, в том числе комбинированной и нецелесообразности ее назначения.

Принято решение о конверсии в сторону хирургического лечения. Пациенту выполнена трансназальная аденомэктомия, аденома удалена радикально. В раннем послеоперационном периоде отмечено снижение уровня пролактина в сыворотке крови до 50 мЕд/л, клинических и лабораторных признаков гипопитуитаризма не было. Через 6 месяцев после проведенной операции уровень пролактина в крови – 179 мЕд/л, объемные образования в гипоталамо-гипофизарной области не определялись. Терапию пациент не получал. Самочувствие хорошее, отмечен регресс головной боли, субъективное улучшение половой функции.

Таким образом, опыт практического применения методики определения фармакодинамических характеристик каберголина в сыворотке крови в ходе двухэтапной пробы продемонстрировал клиническую значимость в отношении определения статуса чувствительности пациентов к агонистам дофамина, оценки потенциала медикаментозной терапии в отношении конкретного пациента и формирования персонализированного алгоритма лечения.

### 3.16 Алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующей аденомой гипофиза



**Рисунок 23.** Алгоритм ведения пациентов с пролактин-секретирующей аденомой гипофиза

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пролактин-секретирующие аденомы – наиболее распространенные гормонально-активные аденомы гипофиза, важнейшими проявлениями которых являются нарушение работы репродуктивной системы и снижение качества жизни вследствие комплекса патологий, ассоциированных с гиперпролактинемией. При наличии пролактиномы больших размеров возникают жизнеугрожающие состояния, обусловленные масс-эффектом опухоли: апоплексия гипофиза, ликворея, необратимые зрительные нарушения.

При этом, в значительной части случаев (около 20%) пролактин-секретирующих аденом гипофиза имеет место резистентность к предпочтительному способу лечения пролактином – медикаментозной терапии агонистами дофамина. В случае резистентности к терапии принципиально важно определить статус чувствительности к лечению на максимально раннем этапе, что позволит предотвратить последствия гиперпролактинемии и патологические проявления масс-эффекта пролактин-секретирующей опухоли гипофиза. Характерные особенности пациентов с резистентностью к терапии агонистами дофамина в настоящее время не определены, диагностические маркеры резистентности – отсутствуют.

По данным проведенной нами работы выявлены характерные клиничко-лабораторные характеристики пациентов с пролактин-секретирующими аденомами гипофиза, резистентных к терапии: более молодой возраст манифестации, признаки «агрессивности» роста, преобладание в структуре проявлений заболевания нарушений работы репродуктивной системы и ухудшения зрения. Выявление совокупности данных характеристик свидетельствует о высокой вероятности резистентности к терапии и определяет необходимость пересмотра тактики лечения.

В ходе исследования отмечены лабораторные особенности пациентов с пролактиномами, резистентных к лечению агонистами дофамина: уровень пролактина крови в дебюте заболевания выше, чем у чувствительных пациентов. У резистентных пациентов исходный уровень пролактина одинаково высок как при микро, так и при макроаденомах. Выраженность гиперпролактинемии положительно коррелирует со степенью инвазии аденомы, что характерно для пациентов, резистентных к лечению агонистами дофамина.

По результатам работы выявлены морфологические и топографо-анатомические особенности, присущие пациентам с резистентными пролактиномами: выраженно инвазивный характер роста с преобладанием максимальной, IV степени инвазии, в соответствии с классификацией KNOSP, преимущественно супра- и параселлярный характер роста. Супраселлярное распространение пролактин-секретирующих аденом у пациентов, резистентных к терапии соответствует более высоким темпам увеличения размера аденомы, по сравнению

таковым у чувствительных пациентов. Преимущественное параселлярное распространение обусловлено как морфологическими, так и эмбриогенетическими особенностями пролактином – в ходе дифференцировки ткани гипофиза лактотрофы располагаются преимущественно в области заднебоковых отделах гипофиза, непосредственно прилегающих к границе с кавернозными синусами, что обуславливает распространение аденомы в этом направлении. Сочетание указанных топографо-анатомических особенностей и склонности к быстрой пролиферации, характерной для резистентных к терапии агонистами дофамина пациентов, определяет наличие данных характеристик. Кроме того, у пациентов, резистентных к лечению, выявлена большая частота нарушений зрения, в первую очередь – битемпорального характера, что соответствует характеру роста пролактин-секретирующих аденом в данной группе пациентов и подчеркивает необходимость наиболее ранней диагностики резистентности пролактином к терапии для выбора оптимальной тактики лечения и предотвращения необратимых изменений. Для сегрегации пациентов, относящихся к «группе риска» по наличию резистентности к медикаментозной терапии в общей выборке пациентов с пролактиномами построена математическая модель логистической регрессии. Выделение потенциально резистентных пациентов позволит избежать необходимости проведения фармакодинамической пробы всем пациентам с пролактиномами, что существенно снизит экономические затраты в сфере здравоохранения в целом и улучшит качество жизни конкретных пациентов.

С целью разработки подхода к определению тактики и персонализации лечения пациентов с пролактиномами, включающего определение статуса чувствительности к агонистам дофамина проведен анализ применения двухэтапного каберголин-гидроксихлорохинового теста. По данным фармакодинамического исследования выявлены значимые отличия концентрации каберголина у чувствительных или резистентных к терапии пациентов, проявляющиеся с 30-й минуты исследования. Маркерными временными точками, которые могут быть использованы для дифференцировки чувствительности пациентов к терапии являются 120-я и 24-я минуты. Лабораторные диагностические маркеры, используемые в способе определения тактики и персонализации лечения пациентов, резистентных к терапии - процент прироста концентрации каберголина в сыворотке крови и продолжительность плато концентрации каберголина. В качестве порогового значения целесообразно использовать показатель процента прироста - 600%, показатель продолжительности плато концентрации каберголина - 690 минут.

На основании анализа фармакодинамических характеристик пациентов в ходе двухэтапной пробы выявлено 4 паттерна, присущих пациентам с резистентностью к терапии. Обнаружение любого из них свидетельствует о наличии у пациента резистентности. Каждый из

паттернов диктует необходимость применения определенного алгоритма персонализированной терапии

Полученные данные явились основой формирования алгоритма персонализированного ведения пациентов с пролактин-секретирующими аденомами.

Выявлены соматические мутации, характерные для пролактин-секретирующих аденом, резистентных к терапии, причем отмечена противоположная экспрессия определенных генов в образцах чувствительных и резистентных пролактин-секретирующих аденом гипофиза. Так, в случае резистентности к терапии активирована экспрессия генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3*. Экспрессия этих же генов ингибирована в случае чувствительных пролактином. Научная гипотеза настоящего исследования сформировалась на фундаменте работ российских и зарубежных коллег, выявивших генетические изменения резистентных пролактином при проведении исследований геномного уровня. Результаты более прецизионных методик молекулярной визуализации - транскриптомного исследования и секвенирования единичных клеток - полученные в нашей работе, выявили изменения структуры генома и гетерогенности клеток в актуальный момент времени, что недостижимо при исследовании генома, одинакового для клеток одной линии.

Определение особенностей, присущих резистентности к терапии, позволяет на раннем этапе определить наиболее оптимальную, персонализированную с учетом индивидуальных характеристик тактику лечения, при необходимости – своевременно провести конверсию в сторону хирургического вмешательства.

Проведенное нами исследование определяет вектор дальнейших научных разработок - изучение протеомных характеристик, а также клеточного и иммунного микроокружения резистентных пролактином, исследование которых обеспечит раннюю диагностику и создание методов таргетного лечения.

## ВЫВОДЫ

1. Пролактиномы, резистентные к лечению агонистами дофамина, по сравнению с чувствительными к лечению аденомами, характеризуются большей частотой супра- и параселлярного распространения (83% vs 57% и 97% vs 14%, соответственно), инвазивного роста (43% vs 7%), в меньшей степени отмечается наличие кистозного компонента опухоли (7% vs 54%).
2. Возраст манифестации заболевания при резистентности к терапии агонистами дофамина ниже, чем в случаях чувствительности пролактином к лечению (медиана возраста 26 лет vs 35 лет). Пациенты с резистентными пролактиномами чаще имеют зрительные нарушения (70% vs 29%), отличаются неудовлетворительной динамикой купирования гиперпролактинемии (медиана гиперпролактинемии на фоне медикаментозной терапии 6350 мЕд/л vs 424,5 мЕд/л), при этом уровень пролактина в сыворотке крови положительно коррелирует с объемом аденомы.
3. В случае резистентности к терапии агонистами дофамина доказано наличие фармакодинамических дефектов, обуславливающих невозможность достижения целей лечения пролактиномы, выявлено 4 патологических фармакодинамических паттерна, определяющих дифференцированный подход к тактике ведения.
4. Резистентные к терапии агонистами дофамина пролактиномы обладают характерными генетическими особенностями: активация экспрессии генов *CAMKV*, *GPR50*, *PLN5*, *GJB2*, *RXFP3* и ингибирование *ANO9*, *PAGE2*, *PAGE5*, *SGC*, *TUBA3C*, *BRS3*. При этом выявлена противоположная экспрессия генов в образцах чувствительных и резистентных пролактин-секретирующих аденом гипофиза.
5. По данным секвенирования единичных клеток обнаружены характерные для резистентных пролактином генные сигнатуры, свидетельствующие о детерминированности агрессивного, резистентного фенотипа клеточной гетерогенностью опухоли.
6. Разработан алгоритм персонализированного ведения пациентов, позволяющий оптимизировать терапевтическую тактику, при необходимости – своевременно выполнить конверсию в сторону оперативного лечения.



## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

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

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Bulk-RNA-seq – Bulk-RNA-sequencing  
CAGE-sequencing – cap analysis of genes expression sequencing  
CAR-T – chimeric antigen receptors T cell  
GATA-2 – GATA связывающий белок 2  
ER $\alpha$  – эстрогеновые рецепторы альфа  
FDR – false discovery rate  
FIPA – синдром семейных изолированных аденом гипофиза  
KNDy нейрон - кисспепин-, нейрокинин B, динорфин нейрон  
Ki-67 – маркер пролиферативной активности  
Pit-1 – гипофиз-специфичный транскрипционный фактор 1  
MDS – multidimensional scaling plot  
N – количество  
Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub> – 1-й и 3-й квартили  
REF референсный датасет  
scRNAseq – single-cell sequencing  
SF-1 - стероид-специфичный транскрипционный фактор 1  
TBX19 (T-box transcription factor TBX19)  
TGF $\beta$ 1 – transforming growth factor- $\beta$ 1  
Tpit – T-box транскрипционный фактор  
UMAP – uniform manifold approximation and projection  
WGS – полногеномное секвенирование генома  
АКТГ – аденокортикотропный гормон  
ВЭЖХМС/МС – высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия  
D2 рецептор – дофаминовый рецептор 2 типа  
ИГХ – иммуногистохимическое исследование  
ИХЛА - иммунохемилюминисцентный анализ  
КМУ – Критерий Манна-Уитни  
ЛГ – лютеинизирующий гормон  
МРТ – магнитно-резонансная томография  
МЭН – 1 синдром - синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа  
ОНГ – анализ обогащения набора генов  
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

ЭРа – эстрогеновые рецепторы  $\alpha$

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Патент 2637430 Российская Федерация, МПК G01N 33/493. Способ выбора тактики ведения пациентов с резистентными к консервативному лечению пролактин-секретирующими аденомами гипофиза на основе анализа индивидуальных особенностей фармакодинамики каберголина / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Л.К. Дзеранова и др.; заявитель и патентообладатель ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ (RU); заявл. 29.06.2016; опубл. 04.12.2017. – 10 с.
2. Ахкубекова, Н.К. Взаимодействие эстрогенов, прогестерона и дофамина в регуляции секреции пролактина / Н.К. Ахкубекова // Проблемы эндокринологии. – 2009. – № 55 (6). – С. 46-48.
3. Вагапова, Г.Р. Репродуктивные нарушения у женщин с гиперпролактинемией: патогенез, клинические проявления, диагностика / Г.Р. Вагапова // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 2. – С. 19-26.
4. Гиперпролактинемия в практике гинеколога: этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение / О.Р. Григорян, А.А. Ларина, Е.Н. Андреева, Г.А. Мельниченко // Проблемы репродукции. – 2013. – № 4. – С. 14-20.
5. Гиперпролактинемия. Современные подходы и старые проблемы / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Т.И. Романцова и др. // Вестник репродуктивного здоровья. – 2009. – № 2. – С. 2-8.
6. Дедов, И.И. Синдром гиперпролактинемии / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Т.И. Романцова. – М.: Триада, 2004. – 304 с.
7. Дзеранова, Л.К. Каберголин: 30-летнее единство опыта и доверия / Л.К. Дзеранова, С.Ю. Воротникова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – № 13 (6). – С. 45-49.
8. Дзеранова, Л.К. Особенности диагностики и лечения гиперпролактинемического синдрома / Л.К. Дзеранова, И.И. Бармина // Эффективная фармакотерапия в эндокринологии. – 2009 – № 1. – С. 10-17.
9. Дзеранова, Л.К. Синдром гиперпролактинемии у женщин и мужчин: клиника, диагностика, лечение: дис. ... док. мед. наук: 14.00.03 / Дзеранова Лариса Константиновна. – М., 2007. – 224 с.
10. Иловайская, И.А. Гиперпролактинемия в акушерско-гинекологической практике / И.А. Иловайская // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 4. – С. 149-154.
11. Клинические и лабораторные аспекты феномена макропролактинемии / Г.А. Мельниченко, Н.П. Гончаров, Л.К. Дзеранова, И.И. Бармина // Вестник российской академии медицинских наук. – 2007. – № 3. – С. 52-54.

12. Клинические рекомендации «Гиперпролактинемия» (проект). / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Л.К. Дзеранова и др. // Ожирение и метаболизм. – 2023. – № 20 (2). – С. 170-188.
13. Немые аденомы гипофиза: обзор литературы и описание серии клинических случаев / А.К. Липатенкова, Л.К. Дзеранова, Е.А. Пигарова и др. // Ожирение и метаболизм. – 2015. – № 2 (12). – С. 40-46.
14. Плюригормональные клетки аденогипофиза. Новые возможности оптимизации молекулярной диагностики нейроэндокринных опухолей / Л.Б. Митрофанова, П.В. Коновалов, Ю.С. Крылова и др. // Молекулярная медицина. – 2017. – № 6. – С. 38-45.
15. Показания к хирургическому лечению пролактин-секретирующих аденом гипофиза / П.Л. Калинин, Л.И. Астафьева, Б.А. Кадашев, Д.Б. Исмаилов // Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко. – 2017. – № 81 (5). – Р. 117-124.
16. Себко, Т.В. Гиперпролактинемия / Т.В. Себко, Л.А. Хейдар, С.С. Конеева // Российский медицинский журнал. – 2016. – № 22 (5). – С. 250-59.
17. Химиотерапия в лечении агрессивных аденом гипофиза / Г.Л. Кобяков, И.В. Чернов, Л.И. Астафьева и др. // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. – 2020. – № 84 (1). – Р. 69-75.
18. Эффект терапии агонистами дофамина гигантской пролактиномы / А.И. Циберкин, Т.Л. Каронова, А.Б. Далматова, Е.Н. Гринева // Проблемы эндокринологии. – 2017. – Т. 63, № 4. – С. 231-235.
19. A comprehensive review on MAPK: a promising therapeutic target in cancer / C. Braicu, M. Buse, C. Busuioc et al. // Cancers. – 2019. – Vol. 11 (10). – P. 1618.
20. A single-cell RNA-seq survey of the developmental landscape of the human prefrontal cortex / S. Zhong, S. Zhang, X. Fan et al. // Nature. – 2018. – Vol. 555 (7697). – P. 524-528.
21. A validated LC-MS/MS method for analysis of cabergoline in human plasma with its implementation in a bioequivalent study: investigation of method greenness / K. Shalaby, S. Alghamdi, M. Gamal et al. // BMC Chemistry. – 2022. – Vol. 16 (1). – P. 71
22. Aggressive pituitary tumors and pituitary carcinomas: from pathology to treatment / P. Burman, O. Casar-Borota, L.G. Perez-Rivas, O.M. Dekkers // Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2023. – Vol. 108 (7). – P. 1585-1601.
23. Aggressive prolactinoma (Review) / A. Valea, F. Sandru, A. Petca et al. // Experimental and therapeutic medicine. – 2022. – Vol. 23 (1). – P. 74.
24. An economic analysis of bromocriptine versus trans-sphenoidal surgery for the treatment of prolactinoma / L. Duan, H. Yan, M. Huang et al. // Journal of craniofacial surgery. – 2017. – Vol. 28. – P. 1046-1051.

25. Approach to the patient with prolactinoma / R.S. Auriemma, R. Pirchio, C. Pivonello et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2023. – Vol. 108 (9). – P. 2400-2423.
26. Are dopamine agonists still the first-choice treatment for prolactinoma in the era of endoscopy? A systematic review and meta-analysis / X. Cai, J. Zhu, J. Yang et al. // *Chinese neurosurgical journal*. – 2022. – Vol. 8 (1). – P. 9.
27. Asa, S.L. The pathogenesis of pituitary tumors / S.L. Asa, S. Ezzat // *Annual review of pathology mechanisms of disease*. – 2009. – Vol. 4. – P. 97-126.
28. Association of prolactin receptor (PRLR) variants with prolactinomas / C.M. Gorvin, P.J. Newey, A. Rogers et al. // *Human molecular genetics*. – 2019. – Vol. 28. – P. 1023-1037.
29. Beta-arrestin 2 is required for dopamine receptor type 2 inhibitory effects on AKT phosphorylation and cell proliferation in pituitary tumors / F. Mangili, E. Giardino, D. Treppiedi et al. // *Neuroendocrinology*. – 2021. – Vol. 111 (6). – P. 568-579.
30. Booth, A.K. Signaling pathways regulating pituitary lactotrope homeostasis and tumorigenesis / A.K. Booth, A. Gutierrez-Hartmann // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2015. – Vol. 846. – P. 37-59.
31. Bromocriptine and cabergoline induce cell death in prolactinoma Cells via the ERK/EGR1 and AKT/mTOR Pathway Respectively / C. Tang, R. Sun, G. Wen et al. // *Cell death & disease*. – 2019. – Vol. 10 (5). – P. 335.
32. Bromocriptine induces autophagy-dependent cell death in pituitary adenomas / X. Geng, L. Ma, Z. Li et al. // *World neurosurgery*. – 2017. – Vol. 100. – P. 407-416.
33. Cabergoline in the management of residual nonfunctioning pituitary adenoma: a single-center, open-label, 2-year randomized clinical trial / R.L. Batista, N.R.C. Musolino, V.A.S. Cescato et al. // *American journal of clinical oncology*. – 2019. – Vol. 42 (2). – P. 221-227.
34. Caimari, F. Novel genetic causes of pituitary adenomas / F. Caimari, M. Korbonits // *Clinical cancer research*. – 2016. – Vol. 22 (20). – P. 5030-5042.
35. Canovas, B. Diversity and versatility of p38 kinase signalling in health and disease / B. Canovas, A.R. Nebreda // *Nature reviews molecular cell biology*. – 2021. – Vol. 22 (5). – P. 346-366.
36. Cappabianca, P. Transsphenoidal surgery: a journey of 50 years / P. Cappabianca, L. M. Cavallo, D. Solari // *World Neurosurg*. – 2013. – Vol. 79. – P. 253-254.
37. Case report: temozolomide treatment of refractory prolactinoma resistant to dopamine agonists / H. Tang, Y. Cheng, J. Huang et al. // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2021. – Vol. 12. – P. 616339.
38. Cell type- and sex-dependent transcriptome profiles of r anterior pituitary cells / P.A. Fletcher, K. Smiljanic, R.M. Prévide et al. // *Frontiers in endocrinology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 623.

39. Chanson, P. The epidemiology, diagnosis and treatment of prolactinomas: the old and the new / P. Chanson, D. Maiter // *Best practice & research: clinical endocrinology & metabolism*. – 2019. – Vol. 33 (2). – P. 101290.
40. Clinical characteristics and surgical outcome of prolactinoma in patients under 14 years old / Y. Zhao, D. Jin, W. Lian et al. // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98. – P. e14380.
41. Clinical management of difficult to treat macroprolactinomas / N. Sahakian, F. Castinetti, H. Dufour et al. // *Expert review of endocrinology & metabolism*. – 2019. – Vol. 14. – P. 179-192.
42. Clinical outcomes in male patients with lactotroph adenomas who required pituitary surgery: a retrospective single center study / W. Liu, R.S. Zahr, S. McCartney et al. // *Pituitary*. – 2018. – Vol. 21 (5). – P. 454-462.
43. Clinical, pathological, and molecular factors of aggressiveness in lactotroph tumours / J. Trouillas, E. Delgrange, A. Wierinckx et al. // *Neuroendocrinology*. – 2019. – Vol. 109. – P. 70-76.
44. Clonal origin of pituitary adenomas / V. Herman, J. Fagin, R. Gonsky et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 1990. – Vol. 71 (6). – P. 1427-1433.
45. Comprehensive Integration of single-cell data / T. Stuart, A. Butler, P. Hoffman et al. // *Cell*. – 2019. – Vol. 177 (7). – P. 1888-1902.
46. Costello, R.T. Subclinical adenoma of the pituitary gland / R.T. Costello // *American journal of pathology*. – 1936. – Vol. 12 (2). – P. 205-216.
47. Daly, A.F. The epidemiology of pituitary adenomas / A.F. Daly, A. Beckers // *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. – 2020. – Vol. 49 (3). – P. 347-355.
48. Decoupling genetics, lineages, and microenvironment in IDH-mutant gliomas by single-cell RNA-seq / A.S. Venteicher, I. Tirosh, C. Hebert et al. // *Science*. – 2017. – Vol. 355 (6332). – P. eaai8478.
49. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: An endocrine society clinical practice guideline / S. Melmed, F.F. Casanueva, A.R. Hoffman et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2011. – Vol. 96. – P. 273-288.
50. Dissecting the multicellular ecosystem of metastatic melanoma by single-cell RNA-seq / I. Tirosh, B. Izar, S.M. Prakadan et al. // *Science*. – 2016. – Vol. 352 (6282). – P. 189-196.
51. Donoho, D.A. The role of surgery in the management of prolactinomas / D.A. Donoho, E.R. Laws Jr. // *Neurosurgery clinics of North America*. – 2019. – Vol. 30 (4). – P. 509-514.
52. Dopamine agonist-induced impulse control disorders in patients with prolactinoma: a cross-sectional multicenter study / S.C. Dogansen, U. Cikrikcili, G. Oruk et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2019. – Vol. 104. – P. 2527-2534.

53. Dopamine agonists: from the 1970s to Today / R.S. Auriemma, R. Pirchio, D. De Alcubierre et al. // *Neuroendocrinology*. – 2019. – Vol. 109 (1). – P. 34.
54. Effect of cabergoline monotherapy in cushing's disease: an individual participant data meta-analysis / R. Palui, J. Sahoo, S. Kamalanathan et al. // *Journal of endocrinological investigation*. – 2018. – Vol. 41 (12). – P. 1445-1455.
55. Effect of everolimus in treatment of aggressive prolactin-secreting pituitary adenomas / D. Zhang, J.S. Way, X. Zhang et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2019. – Vol. 104. – P. 1929-1936.
56. EGFR/ErbB2-targeting lapatinib therapy for aggressive prolactinomas / O. Cooper, V.S. Bonert, J. Rudnick et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2021. – Vol. 106. – P. e917-e925.
57. Enhanced LH action in transgenic female mice expressing hCGbeta-subunit induces pituitary prolactinomas; the role of high progesterone levels / P. Ahtiainen, V. Sharp, S. B. Rulli et al. // *Endocrine-related cancer*. – 2010. – Vol. 17. – P. 611-621.
58. Estrogen receptor antagonist fulvestrant inhibits proliferation and promotes apoptosis of prolactinoma cells by regulating the IRE1/XBP1 signaling pathway / C. Wang, M. Bai, X. Wang et al. // *Molecular medicine reports*. – 2018. – Vol. 18. – P. 4037-4041.
59. Excellent response to pasireotide therapy in an aggressive and dopamine-resistant prolactinoma / E.C. Coopmans, S.W.F. van Meyel, K.J. Pieterman et al. // *European journal of endocrinology*. – 2019. – Vol. 181. – P. K21-K27.
60. Expression patterns of ER $\alpha$ 66 and its novel variant isoform ER $\alpha$ 36 in lactotroph pituitary adenomas and associations with clinicopathological characteristics / F. Mahboobifard, F. Bidari-Zerehpooch, Z. Davoudi et al. // *Pituitary*. – 2020. – Vol. 23. – P. 232-245.
61. FANTOM Consortium. Comparison of CAGE and RNA-seq transcriptome profiling using clonally amplified and single-molecule next-generation sequencing / H. Kawaji, M. Lizio, M. Itoh et al. // *Genome research*. – 2014. – Vol. 24 (4). – P. 708-717.
62. Fertility after transsphenoidal surgery in patients with prolactinomas: a meta-analysis / N. Lamba, N. Noormohamed, T. Simjian et al. // *Clinical neurology and neurosurgery*. – 2019. – Vol. 176. – P. 53-60.
63. FOXP1-induced lncRNA CLRN1-AS1 acts as a tumor suppressor in pituitary prolactinoma by repressing the autophagy via inactivating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway / C. Wang, C. Tan, Y. Wen et al. // *Cell death & disease*. – 2019. – Vol. 10 (7). – P. 499.



64. From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): an International Pituitary Pathology Club Proposal / S.L. Asa, O. Casar-Borota, P. Chanson et al. // *Endocrine-related cancer*. – 2017. – Vol. 24 (4). – P. C5-C8.
65. Fu, D. Long noncoding RNA CCAT2 is activated by E2F1 and exerts oncogenic properties by interacting with PTTG1 in pituitary adenomas / D. Fu, Y. Zhang, H. Cui // *American journal of cancer research*. – 2018. – Vol. 8. – P. 245-255.
66. Galectin-3 and estrogen receptor alpha as prognostic markers in prolactinoma: preliminary results from a pilot study / C. Bima, S. Chiloire, A. Giampietro et al. // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2021. – Vol. 12. – P. 684055.
67. Gangisetty O., Wynne O., Jabbar S. et al. Fetal alcohol exposure reduces dopamine receptor D2 and increases pituitary weight and prolactin production via epigenetic mechanisms / O. Gangisetty, O. Wynne, S. Jabbar et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10 (10). – P. e0140699.
68. Genetics in endocrinology: somatic and germline mutations in the pathogenesis of pituitary adenomas / S. Vandeva, A.F. Daly, P. Petrossians et al. // *European journal of endocrinology*. – 2019. – Vol. 181 (6). – P. R235-R254.
69. Genomic alterations in sporadic pituitary tumors / W.L. Bi, A.G. Larsen, I.F. Dunn // *Current neurology and neuroscience reports*. – 2018. – Vol. 18 (1). – P. 4.
70. Genomic and transcriptomic analysis of pituitary adenomas reveals the impacts of copy number variations on gene expression and clinical prognosis among prolactin-secreting subtype / Y. Chen, H. Gao, W. Xie et al. // *Aging (Albany NY)*. – 2020. – Vol. 13 (1). – P. 1276-1293.
71. Giant prolactinomas: Outcomes of multimodal treatments for 42 cases with long-term follow-up / L. Lv, Y. Hu, S. Yin et al. // *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. – 2019. – Vol. 127. – P. 295.
72. Glucose abnormalities associated to prolactin secreting pituitary adenomas / R.S. Auriemma, De D. Alcubierre, R. Pirchio et al. // *Front endocrinol (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 327.
73. Greenman, Y. Cabergoline should be attempted in progressing non-functioning pituitary macroadenoma / Y. Greenman, M.D. Bronstein // *European journal of endocrinology*. – 2021. – Vol. 185 (4). – P. 11-20.
74. Halevy, C. How effective is temozolomide for treating pituitary tumours and when should it be used? / C. Halevy, B.C. Whitelaw // *Pituitary*. – 2017. – Vol. 20. – P. 261-266.
75. Human PRDM2: Structure, function and pathophysiology / A. Sorrentino, M. Rienzo, A. Ciccodicola et al. // *Biochimica et biophysica acta - gene regulatory mechanisms*. – 2018. – S1874-9399(18)30071-3.

76. Hydroxychloroquine overcomes cabergoline resistance in a patient with lactotroph pituitary neuroendocrine tumor: a case report / S. Lin, C. Han, X. Lou, Z. B. Wu // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 13. – P. 955100.
77. Hyperprolactinemia diagnosis in elderly men: a cohort of 28 patients over 65 years / I. Shimon, D. Hirsch, G. Tsvetov et al. // *Endocrine*. – 2019. – Vol. 65. – P. 656-661.
78. Identification of a novel somatic mutation of POU6F2 by whole-genome sequencing in prolactinoma / Y. Miao, C. Li, J. Guo et al. // *Molecular genetics & genomic medicine*. – 2019. – Vol. 7 (12). – P. e1022.
79. Identification of the tumour transition states occurring during EMT / I. Pastushenko, A. Brisebarre, A. Sifrim et al. // *Nature*. – 2018. – Vol. 556. – P. 463-468.
80. Ilie, M.D. Aggressive pituitary adenomas and carcinomas / M.D. Ilie, E. Jouanneau, G. Raverot // *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. – 2020. – Vol. 49. – P. 505-515.
81. Immunotherapy in aggressive pituitary tumors and carcinomas: a systematic review / M.D. Ilie, A. Vasiljevic, E. Jouanneau, G. Raverot // *Endocrine-related cancer*. – 2022. – Vol. 29 (7). – P. 415-426.
82. Impact of menopause on outcomes in prolactinomas after dopamine agonist treatment withdrawal / S. Santharam, A. Fountas, M. Tampourlou et al. // *Clinical endocrinology (Oxf)*. – 2018. – Vol. 89. – P. 346-353.
83. Impulse control disorders in patients with prolactinoma receiving dopamine agonist therapy: a prospective study with 1 year follow-up / E. Celik, H.M. Ozkaya, B.C. Poyraz et al. // *Endocrine*. – 2018. – Vol. 62. – P. 692-700.
84. Increased expression of aromatase cytochrome P450 enzyme is associated with prolactinoma invasiveness in post-menopausal women / Y.X. Su, G.L. Du, H.L. Shen et al. // *Journal of international medical research*. – 2019. – Vol. 47. – P. 3115-3126.
85. Inhibiting MAPK14 showed anti-prolactinoma effect / Q. Y. Ding, Y. Zhang, L. Ma et al. // *BMC Endocr Disord*. – 2020. – Vol. 20 (1). – P. 138.
86. Inoshita, N. The 2017 WHO classification of pituitary adenoma: overview and comments / N. Inoshita, H. Nishioka // *Brain tumor pathology*. – 2018. – Vol. 35. – P. 51-56.
87. Integrating single cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species / A. Butler, P. Hoffman, P. Smibert et al. // *Nature biotechnology*. – 2018. – Vol. 36 (5). – P. 411-420.
88. Landscape of genomic alterations in pituitary adenomas / W.L. Bi, P. Horowitz, N.F. Greenwald et al. // *Clinical cancer research*. – 2017. – Vol. 23 (7). – P. 1841-1851.

89. Lasolle, H. Aggressive Prolactinomas: How to Manage? / H. Lasolle, M.D. Ilie, G. Raverot // Pituitary. – 2020. – Vol. 23 (1). – P. 70-77.
90. Lin, C. Long noncoding R. N. A. in cancer: wiring signaling circuitry / C. Lin, L. Yang // Trends cell biology. – 2018. – Vol. 28. – P. 287-301.
91. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 acts as a competing endogenous RNA of miR-423-5p to facilitate nasopharyngeal carcinoma metastasis through regulating the Rho/Rac pathway / Y. Lian, F. Xiong, L. Yang et al. // Journal of experimental & clinical cancer research. – 2018. – Vol. 37. – P. 253.
92. Long-term follow-up of female prolactinoma patients at child-bearing age after transsphenoidal surgery / N. Yi, L. Ji, Q. Zhang et al. // Endocrine. – 201. – Vol. 62 (1). – P. 76-82.
93. Lopes, M.B.S. Pathology of prolactinomas: any predictive value? / M.B.S. Lopes // Pituitary. 2020. – Vol. 23 (1). – P. 3-8.
94. Lopes, M.B.S. The 2017 World Health Organization classification of tumors of the pituitary gland: a summary / M.B.S. Lopes // Acta neuropathologica. – 2017. – Vol. 134 (4). – P. 521-535.
95. Lower PRDM2 expression is associated with dopamine-agonist resistance and tumor recurrence in prolactinomas / H. Gao, F. Wang, X. Lan et al. // BMC cancer. – 2015. – Vol. 15. – P. 272.
96. Lu, G. Long-noncoding R. N. A. IFNG-AS1 exerts oncogenic properties by interacting with epithelial splicing regulatory protein 2 (ESRP2) in pituitary adenomas / G. Lu, J. Duan, D. Zhou // Pathology, research and practice. – 2018. – Vol. 214. – P. 2054-2061.
97. Ma Q., Su J., Li Y. et al. The chance of permanent cure for micro- and macroprolactinomas, medication or surgery? A systematic review and meta-analysis / Q. Ma, J. Su, Y. Li et al. // Frontiers in endocrinology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-10.
98. Macroprolactinomas: longitudinal assessment of biochemical and imaging therapeutic responses / C. Araújo, O. Marques, R. Almeida, M.J. Santos // Endocrine. – 2018. – Vol. 62. – P. 470-476.
99. Maik-Rachline, G. Nuclear P38: roles in physiological and pathological processes and regulation of nuclear translocation / G. Maik-Rachline, L. Lifshits, R. Seger // International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21 (17). – P. 6102.
100. Maiter, D. 2012 update in the treatment of prolactinomas / D. Maiter, V. Primeau // Annales d'Endocrinologie. – 2012. – Vol. 73. – P. 90-98.
101. Maiter, D. Management of dopamine agonist-resistant prolactinoma / D. Maiter // Neuroendocrinology. – 2019. – Vol. 109. – P. 42-50.
102. Maiter, D. Therapy of endocrine disease: the challenges in managing giant prolactinomas / D. Maiter, E. Delgrange // European journal of endocrinology. – 2014. – Vol. 170. – P. R213-227.

103. Management and outcomes of giant prolactinoma: a series of 71 patients / O. Hamidi, J. Van Gompel, L. Gruber et al. // *Endocrine practice*. – 2019. – Vol. 25. – P. 340-352.
104. Mehta, G.U. Management of hormone-secreting pituitary adenomas / G.U. Mehta, R.R. Lonser // *Neuro-oncology*. – 2017. – Vol. 19. – P. 762-773.
105. Melmed, S. Pituitary-tumor endocrinopathies / S. Melmed // *New England journal of medicine*. – 2020. – Vol. 382(10). – P. 937-950.
106. Metabolic effects of prolactin and the role of dopamine agonists: a review / P. Kirsch, J. Kunadia, S. Shah, N. Agrawal // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1002320.
107. MicroRNA-93 mediates cabergoline-resistance by targeting ATG7 in prolactinoma / Z. Wu, L. Cai, J. Lu et al. // *Journal of endocrinology*. – 2018. – Vol. 240 (1). – P. 1-13.
108. miRNA-mediated drug repurposing unveiled potential candidate drugs for prolactinoma treatment / B. Aydin, S. Arslan, F. Bayraklı et al. // *Neuroendocrinology*. – 2021. – Vol. 112. – P. 161-173.
109. Molecular pathogenesis of human prolactinomas identified by gene expression profiling, RT-qPCR, and proteomic analyses / C.O. Evans, C.S. Moreno, X. Zhan et al. // *Pituitary*. – 2008. – Vol. 11 (3). – P. 231-245.
110. Molitch, M.E. Diagnosis and treatment of pituitary adenomas: a review / M.E. Molitch // *Journal of the American Medical Association*. – 2017. – Vol. 317. – C. 516-524.
111. Molitch, M.E. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients / M.E. Molitch // *Pituitary*. – 2005. – № 8 (1). – P. 43-52.
112. Mossmann, D. mTOR signalling and cellular metabolism are mutual determinants in cancer / D. Mossmann, S. Park, M.N. Hall // *Nature reviews cancer*. – 2018. – Vol. 18. – P. 744-457.
113. mPRs represent a novel target for PRL inhibition in experimental prolactinomas / M.A. Camilletti, A. Abeledo-Machado, P.A. Perez et al. // *Endocrine-related cancer*. – 2019. – Vol. 26. – P. 497-510.
114. mTOR promotes pituitary tumor development through activation of PTTG1 / R. Chen, J. Duan, L. Li et al. // *Oncogene*. – 2017. – Vol. 36. – P. 979-988.
115. Multimodal therapy in aggressive pituitary tumors / P. Iglesias, R. Magallón, M. Mitjavila et al. // *Endocrinology, Diabetes and Nutrition*. – 2020. – Vol. 67. – P. 469-485.
116. Natural and molecular history of prolactinoma: insights from a *Prlr<sup>-/-</sup>* mouse model / V. Bernard, C. Villa, A. Auguste et al. // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 9 (5). – P. 6144-6155.
117. Non-secreting pituitary tumours characterised by enhanced expression of YAP/TAZ / P. Xekouki, E.J. Lodge, J. Matschke et al. // *Endocrine-related cancer*. – 2019. – Vol. 26. – P. 215-225.

- 118.Ntali G., Wass J.A. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of non-functioning pituitary adenomas / G. Ntali, J.A. Wass // *Pituitary*. – 2018. – Vol. 21. – P. 111-118.
- 119.Pangenomic classification of pituitary neuroendocrine tumors / M. Neou, C. Villa, R. Armignacco et al. // *Cancer cell*. – 2020. – Vol. 37 (1). – P. 123-134.
- 120.Pasireotide: a potential therapeutic alternative for resistant prolactinoma / H. Lasolle, A. Vasiljevic, F. Borson-Chazot et al. // *Annales d'endocrinologie (Paris)*. – 2019. – Vol. 80. – P. 84-88.
- 121.Pediatric prolactinoma: initial presentation, treatment, and long-term prognosis / A. Hoffmann, S. Adelman, K. Lohle et al // *European journal of pediatrics*. – 2018. – Vol. 177 (1). – P. 125-132.
- 122.Peptide receptor radionuclide therapy for aggressive pituitary tumors: a monocentric experience / G. Giuffrida, F. Ferraù, R. Laudicella et al. // *Endocrine connections*. – 2019. – Vol. 8. – P. 528-535.
- 123.Pituitary hyperplasia, hormonal changes and prolactinoma development in males exposed to estrogens-an insight from translational studies / B. Šošić-Jurjević, V. Ajdžanović, D. Miljić et al. // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21. – P. 2024.
- 124.Pituitary tumor suppression by combination of cabergoline and chloroquine / S.J. Lin, Z.R. Wu, L. Cao et al. // *Journal of clinical endocrinology and metabolism*. – 2017. – Vol. 102 (10). – P. 3692-3703.
- 125.Prolactinoma ErbB receptor expression and targeted therapy for aggressive tumors / O. Cooper, A. Mamelak, S. Bannykh et al. // *Endocrine*. – 2014. – Vol. 46 (2). – C. 318-327.
- 126.Prolactinomas: prognostic factors of early remission after transsphenoidal surgery / G. Zielinski, M. Ozdarski, M. Maksymowicz et al. // *Frontiers in endocrinology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 439.
- 127.Prolactin-releasing peptide: physiological and pharmacological properties / V. Prazienkova, A. Popelova, J. Kunes, L. Maletinska // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – Vol. 20. – P. 5297.
- 128.Resistance to dopamine agonists in pituitary tumors: molecular mechanisms / C. Pivonello, R. Patalano, M. Negri et al. // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 12. – P. 791633.
- 129.Resolving medulloblastoma cellular architecture by single-cell genomics / V. Hovestadt, K.S. Smith, L. Bihannic et al. // *Nature*. – 2019. – Vol. 572 (7767). – P. 74-79.
- 130.Retrospective analysis of 52 patients with prolactinomas following endoscopic endonasal transsphenoidal surgery / Y. Han, D. Chen, C. Zhang et al. // *Medicine (Baltimore)*. – 2018. – Vol. 97. – P. e13198.

- 131.RNA velocity of single cells / G. La Manno, R. Soldatov, A. Zeisel et al. // *Nature*. – 2018. – Vol. 560. – P. 494-498.
- 132.Role of gamma knife radiosurgery in the treatment of prolactinomas / J. Ježková, V. Hána, M. Kosák et al. // *Pituitary*. – 2019. – Vol. 22. – P. 411-421.
- 133.Role of TGF-Beta1/Smad3-mediated fibrosis in drug resistance mechanism of prolactinoma / B. Hu, Z. Mao, X. Jiang et al. // *Brain research*. – 2018. – Vol. 1698. – P. 204-212.
- 134.Sex differences in the development of prolactinoma in mice overexpressing hCG $\beta$ : Role of TGF $\beta$ 1 / E.Y. Faraoni, M.A. Camilletti, A. Abeledo-Machado et al. // *Journal of endocrinology*. – 2017. – Vol. 232. – P. 535-546.
- 135.Single-cell molecular and cellular architecture of the mouse neurohypophysis / Q. Chen, D. Leshkowitz, J. Blechman, G. Levkowitz // *eNeuro*. – 2020. – Vol. 7 (1). – P. ENEURO.0345-19.2019.
- 136.Single-cell multiomics sequencing and analyses of human colorectal cancer / S.H. Bian, Y. Hou, X. Zhou et al. // *Science*. – 2018. – Vol. 362 (6418). – P. 1060-1063.
- 137.Single-cell multiomics sequencing reveals prevalent genomic alterations in tumor stromal cells of human colorectal cancer / Y. Zhou, S. Bian, X. Zhou // *Cancer cell*. – 2020. – Vol. 38 (6). – P. 818-828.
- 138.Single-cell RNA sequencing reveals novel markers of male pituitary stem cells and hormone-producing cell types / L.Y.M. Cheung, A.S. George, S.R. McGee et al. // *Endocrinology*. – 2018. – Vol. 159. – P. 3910-3924.
- 139.Single-cell RNA-seq analysis unveils a prevalent epithelial/mesenchymal hybrid state during mouse organogenesis / J. Dong, Y. Hu, X. Fan et al. // *Genome biology*. – 2018. – Vol. 19 (1). – P. 31.
- 140.Single-cell transcriptome analysis maps the developmental track of the human heart / Y. Cui, Y. Zheng, X. Liu et al. // *Cell reports*. – 2019. – Vol. 26 (7). – P. 1934-1950.
- 141.Single-cell transcriptome and genome analyses of pituitary neuroendocrine tumors / Y. Cui, C. Li, Z. Jiang et al. // *Neuro-oncology*. – 2021. – Vol. 23 (11). – P. 1859-1871.
- 142.Single-cell transcriptomic analysis of primary and metastatic tumor ecosystems in head and neck cancer / S.V. Puram, I. Tirosh, A.S. Parikh et al. // *Cell*. – 2017. – Vol. 171 (7). – P. 1611-1624.
- 143.Single-cell transcriptomics identifies divergent developmental lineage trajectories during human pituitary development / S. Zhang, Y. Cui, X. Ma et al. // *Nature communications*. – 2020. – Vol. 11 (1). – P. 5275.
- 144.Identification and gene expression profiling of human gonadotrophic pituitary adenoma stem cells / L. Yuan, P. Li, J. Zhang et al. // *Acta Neuropathol Commun*. – 2023. – Vol. 11 (1). – P. 24

- 145.Slingshot: cell lineage and pseudotime inference for single-cell transcriptomics / K. Street, D. Risso, R.B. Fletcher et al. // BMC Genomics. – 2018. – Vol. 19. – P. 477.
- 146.Somatic SF3B1 hotspot mutation in prolactinomas / C. Li, W. Xie, J.S. Rosenblum et al. // Nature communications. – 2020. – Vol. 11. – P. 2506.
- 147.Souteiro, P. Dopamine agonist resistant prolactinomas: any alternative medical treatment? / P. Souteiro, N. Karavitaki // Pituitary. – 2020. – Vol. 23 (1). – P. 27-37.
- 148.SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland / T. Fauquier, K. Rizzoti, M. Dattani et al // Proc Natl Acad Sci. – 2008. – 105(8). – P.2907-2912.
- 149.STAT3 promotes tumour progression in glioma by inducing FOXP1 transcription / X. Sun, J. Wang, M. Huang et al. // Journal of cellular and molecular medicine. – 2018. – Vol. 22. – P. 5629-5638.
- 150.Surgery and medical treatment in microprolactinoma: a systematic review and meta-analysis / J. Lu, L. Cai, Z. Wu et al. // International journal of endocrinology. – 2021. – Vol. 2021. – P. 9930059.
- 151.Surgery as a Viable Alternative First-Line Treatment for Prolactinoma Patients. A Systematic Review and Meta-Analysis / A.H. Zamanipoor Najafabadi, I.M. Zandbergen, F. de Vries et al. // Journal of clinical endocrinology and metabolism. – 2020. – Vol. 105(3). – P. e32-e41.
- 152.Temozolomide treatment can improve overall survival in aggressive pituitary tumors and pituitary carcinomas / H. Lasolle, C. Cortet, F. Castinetti et al. // European journal of endocrinology. – 2017. – Vol. 176. – P. 769-777.
- 153.Temozolomide: a novel treatment for pituitary carcinoma / S. Lim, H. Shahinian, M.M. Maya et al. // Lancet oncology. – 2006. – Vol. 7 (6). – P. 518-520.
- 154.The balance of PI3K and ERK signaling is dysregulated in prolactinoma and modulated by dopamine / A.K. Roof, S. Jirawatnotai, T. Trudeau et al. // Endocrinology. – 2018. – Vol. 159 (6). – P. 2421-2434.
- 155.The effect of raloxifene on serum prolactin level in patients with prolactinoma / C. Choudhary, A.H. Hamrahian, J.F. Bena et al. // Endocrine practice. – 2019. – Vol. 25. – P. 684-688.
- 156.The epigenomic landscape of pituitary adenomas reveals specific alterations and differentiates among acromegaly, cushing's disease and endocrine-inactive subtypes / M.P. Salomon, X. Wang, D.M. Marzese et al. // Clinical cancer research. – 2018. – Vol. 24. – P. 4126-4136.
- 157.The long noncoding RNA-H19/miRNA-93a/ATG7 axis regulates the sensitivity of pituitary adenomas to dopamine agonists / Z. Wu, Y. Zheng, W. Xie et al. // Molecular and cellular endocrinology. – 2020. – Vol. 518. – P. 111033.

- 158.The mechanism and pathways of dopamine and dopamine agonists in prolactinomas / X. Liu, C. Tang, G. Wen et al. // *Frontiers in endocrinology*. – 2019. – Vol. 9. – P. 768.
- 159.The pituitary TGF $\beta$ 1 system as a novel target for the treatment of resistant prolactinomas / M.V. Recouvreux, M.A. Camilletti, D.B. Rifkin, G. Díaz-Torga // *Journal of endocrinology*. – 2016. – Vol. 228 (3). – P. 73-83.
- 160.The role of aberrant DNA methylation in misregulation of gene expression in gonadotroph nonfunctioning pituitary tumors / P. Kober, J. Boresowicz, N. Rusetska et al. // *Cancers (Basel)*. – 2019. – Vol. 11 (11). – P. 1650.
- 161.The role of MAPK11/12/13/14 (p38 MAPK) protein in dopamine agonist-resistant prolactinomas / S. Wang, A. Wang, Y. Zhang et al. // *BMC endocrine disorders*. – 2021. – Vol. 21 (1). – P. 235.
- 162.The role of TGF- $\beta$ /Smad signaling in dopamine agonist-resistant prolactinomas / Z. Li, Q. Liu, C. Li // *Molecular and cellular endocrinology*. – 2015. – Vol. 402. – P. 64-71.
- 163.The treatment of refractory pituitary adenomas / C. Dai, X. Liu, W. Ma et al. // *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 334.
- 164.Treatment escape reduces the effectiveness of cabergoline during long-term treatment of acromegaly in monotherapy or in association with first-generation somatostatin receptor ligands / L. Kasuki, M.D. Dalmolin, L.E. Wildemberg, M.R. Gadelha // *Clinical endocrinology*. – 2018. – Vol. 88 (6). – P. 889.
- 165.Treatment of aggressive pituitary tumours and carcinomas: results of a European Society of Endocrinology (ESE) Survey 2016 / A. McCormack, O.M. Dekkers, S. Petersenn // *European journal of endocrinology*. – 2018. – Vol. 178 (3). – P. 265-276.
- 166.Treatment strategies for dopamine agonist-resistant and aggressive prolactinomas: a comprehensive analysis of the literature / R. Sari, M.A. Altinoz, E.B.K. Ozlu et al. // *Hormone and metabolic research*. – 2021. – Vol. 53 (7). – P. 413-424.
- 167.Vieira, A.F. P-cadherin and the journey to cancer metastasis / A.F. Vieira, J. Paredes // *Molecular cancer*. – 2015. – Vol. 14. – P. 178.
- 168.Vroonen, L. Epidemiology and management challenges in prolactinomas / L. Vroonen, A.F. Daly, A. Beckers // *Neuroendocrinology*. – 2019. – Vol. 109 (1). – P. 20-27.
- 169.Wang C., Xu J.L., Wen Y. et al. Fulvestrant inhibits the glycolysis of prolactinoma GH3 cells by downregulating IRE1/XBP1 signaling pathway / C. Wang, J.L. Xu, Y. Wen et al. // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2018. – Vol. 22. – P. 5364-5370.



170.17 $\beta$ -estradiol binding to ER $\alpha$  promotes the progression of prolactinoma through estrogen-response element-induced CaBP-9k up-regulation / J. Liu, H. Han, W. Lu et al. // Bioscience reports. – 2020. – Vol. 40. – P. BSR20191330.