



¹ Казанская государственная медицинская академия – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования

² Городская клиническая больница № 7 им. М.Н. Садыхова, Казань

³ Межрегиональный клинико-диагностический центр, Казань

⁴ Казанский государственный медицинский университет

Изучение экспрессии β -аррестина 2 в качестве прогностического маркера клинического течения и послеоперационной ремиссии пролактинсекретирующих аденом гипофиза

Ф.А. Насыбуллина^{1, 2}, Г.Р. Вагапова, д.м.н., проф.^{1, 3}, Р.Р. Ашимова^{1, 3}, А.Р. Хафизов³, Б.Ю. Пашаев^{3, 4}

Адрес для переписки: Фарида Алимбековна Насыбуллина, nasybullinaf@mail.ru

Для цитирования: Насыбуллина Ф.А., Вагапова Г.Р., Ашимова Р.Р. и др. Изучение экспрессии β -аррестина 2 в качестве прогностического маркера клинического течения и послеоперационной ремиссии пролактинсекретирующих аденом гипофиза. Эффективная фармакотерапия. 2025; 21 (27): 8–16.

DOI 10.33978/2307-3586-2025-21-27-8-16

До 15% первичных новообразований полости черепа приходится на аденомы гипофиза, 53% из которых составляют пролактинсекретирующие аденомы. Несмотря на доступность эффективной медикаментозной терапии, у 20% пациентов отмечается резистентность к агонистам дофаминовых рецепторов, что обусловлено сложными молекулярными механизмами, включая β -аррестин-зависимые сигнальные пути.

Цель исследования – оценить клинико-патологическую значимость экспрессии β -аррестина 2 (β -A2) в пролактиномах и его роль в прогнозировании ремиссии после хирургического лечения.

Материал и методы. Экспрессия β -A2 в послеоперационном материале удаленных пролактином определялась иммуногистохимическим методом с последующей количественной оценкой у 27 пациентов, перенесших эндоназальную эндоскопическую трансфеноидальную аденомэктомию. Клинически инвазивность пролактином оценивалась по классификациям J. Hardy (1973 г.) и E. Knosp (1993 г.). Статистическая обработка данных проводилась с использованием корреляционного анализа, логистической регрессии и ROC-анализа.

Результаты. При неинвазивных пролактиномах (первая и вторая степени по классификации J. Hardy) наблюдалась более низкая экспрессия β -A2 по сравнению с инвазивными опухолями (третья и четвертая степени по классификации J. Hardy): медианы – 4,0 (3,5; 4,5) и 5,0 (4,0; 6,0) соответственно ($U = 51,000$; $p = 0,045$). Корреляционный анализ показал наличие положительной связи между повышением экспрессии β -A2 и увеличением степени инвазивности пролактином ($r = 0,398$; $p = 0,040$). У пациентов с полной послеоперационной ремиссией имел место более низкий уровень экспрессии β -A2 в пролактиномах, чем у пациентов, не достигших ремиссии после хирургического лечения: медианы – 4 (3; 4) и 5 (4; 6) соответственно ($p = 0,014$). Согласно результатам логистического регрессионного анализа, определение экспрессии β -A2 продемонстрировало хорошую прогностическую способность для оценки вероятности достижения послеоперационной ремиссии пролактином ($AUC = 0,775$). Оптимальный порог экспрессии – 4,0. При нем чувствительность метода составила 90,0%, специфичность – 56,2%.

Заключение. В настоящем исследовании установлена связь между повышением экспрессии β -A2 и увеличением степени инвазивности пролактинсекретирующих аденом гипофиза по классификации J. Hardy, а также продемонстрирована возможность использования β -A2 в качестве перспективного прогностического биомаркера вероятности достижения ремиссии пролактином после хирургического лечения. Уровни экспрессии β -A2 в ткани удаленной пролактиномы ниже 4,0 ассоциировались с более высокой вероятностью достижения полной послеоперационной ремиссии.

Ключевые слова: β -аррестин 2, пролактинома, инвазивность, резистентность к агонистам дофаминовых рецепторов, хирургическое лечение, ремиссия



Введение

Согласно данным аутопсии, частота встречаемости аденом гипофиза составляет 16,7% [1]. При этом на аденомы гипофиза приходится до 15% всех первичных опухолей мозга, 53% аденом являются пролактинсекретирующими [2]. Распространенность пролактином в среднем достигает 50 случаев на 100 тыс. взрослого населения, заболеваемость колеблется от трех до пяти новых случаев в год на 100 тыс. взрослого населения [3].

До настоящего времени проблема достижения полной ремиссии пролактином или устойчивого биохимического контроля гиперпролактинемии опухолевого генеза остается нерешенной, несмотря на существование таргетной медикаментозной терапии агонистами дофаминовых рецепторов (АДР). Сложившаяся ситуация может быть обусловлена, во-первых, одновременным наличием у пациента как гиперсекреции пролактина (ПРЛ) с соответствующими гормональными и метаболическими нарушениями, так и аденомы гипофиза, отвечающей всем критериям опухолевого процесса с характерной инвазивностью и агрессивностью, во-вторых, наличием доказанной генетической, клинической, биохимической и молекулярной гетерогенности пролактином.

Согласно данным разных исследователей, у 3,4–20,0% пациентов пролактиномы резистентны к терапии АДР [4–7]. В Российском регистре опухолей гипоталамо-гипофизарной области зарегистрированы до 20% случаев пролактином, сопровождающихся резистентностью к АДР, и в среднем 46% случаев рецидива заболевания после отмены медикаментозной терапии [8]. Систематический обзор 55 наблюдательных исследований, включавший 3564 пациента с пролактиномами (медиана возраста больных – 41 год, из них 70% женщин), показал, что ремиссия длительностью от 2 до 90 месяцев после завершения курса лечения АДР продолжительностью от 1 до 162 месяцев была отмечена в 32% случаев (95%-ный доверительный интервал (ДИ) 18–48). Из них на микропролактиномы приходилось 52% наблюдений (95% ДИ 44–59), на макропролактиномы – 28% (95% ДИ 4–61) [9]. После завершения первого курса терапии АДР гиперпролактинемия рецидивировала у 65% пациентов (95% ДИ 55–74), отвечавших всем критериям достижения ремиссии: нормализация уровня ПРЛ и уменьшение массы опухоли на 50% и более после приема АДР в течение двух лет [9]. В данной когорте после второго курса АДР повторный рецидив гиперпролактинемии наблюдался уже у 70,6%. При этом в 75% случаев рецидив произошел в течение первых 12 месяцев после отмены АДР. Следовательно, необходимо тщательное клиническое наблюдение таких пациентов, особенно в течение первого года после прекращения приема АДР [10].

В другом метаанализе, включавшем 809 пациентов с пролактиномами, установлено, что долгосрочная ремиссия была достигнута у 88% пациентов, перенесших хирургическое лечение, и 52% получавших АДР ($p = 0,001$). Частота долгосрочной ремиссии в группе хирургического лечения также была значительно

выше, чем в группе АДР, как при микропролактиномах, так и при макропролактиномах (91 против 60% ($p = 0,002$), 77 против 43% ($p = 0,003$)) [11].

Приведенные данные доказывают, что терапия АДР не может гарантировать длительную ремиссию пролактином у значительного количества пациентов. Это, в свою очередь, послужило причиной расширения показаний для хирургического лечения.

Согласно рекомендациям Гипофизарного общества (Pituitary Society) по лечению пролактином, хирургическая резекция микропролактином и хорошо отграниченных макропролактином (нулевая и первая степени по классификации Е. Knosp, Knosp 0–1), выполненная опытным нейрохирургом, обеспечивает высокие шансы на излечение, является экономически эффективной и позволяет избежать длительного лечения АДР. Именно поэтому хирургическое вмешательство опытного нейрохирурга должно обсуждаться наряду с назначением АДР в качестве варианта терапии первой линии [12]. В рекомендациях Итальянской ассоциации врачей-эндокринологов (Associazione Medici Endocrinologi) также подчеркивается, что медикаментозная терапия и хирургическое вмешательство могут рассматриваться как альтернативные методы первой линии лечения пациентов с неинвазивными, полностью резектабельными аденомами, секретирующими ПРЛ, независимо от их размеров (микро- или эндоселлярными макропролактиномами) [13]. Перечисленные рекомендации базировались на результатах работ, в которых изучались предикторы достижения послеоперационной ремиссии пролактином. Было показано, что частота наступления ремиссии коррелировала с объемом опухоли до оперативного лечения и была сопоставимой для микро- и интраселлярных макропролактином (89–95% для обоих случаев) [14]. Было также установлено, что вероятность наступления ремиссии коррелировала с уровнем ПРЛ до оперативного вмешательства. При микропролактиномах уровень ПРЛ, который ассоциировался с достижением ремиссии, в 92% наблюдений составлял ≤ 200 нг/мл [12, 15]. Было выявлено, что вероятность послеоперационной ремиссии зависела и от направления роста пролактином. Так, при интраселлярных микропролактиномах ремиссия наблюдалась в 87% случаев, суммарно при интраселлярных микро- и макропролактиномах – в 78%, при микропролактиномах, прилегающих к стенке кавернозного синуса (Knosp 0–2), – в 45%, при супраселлярных аденомах без хиазмального синдрома – в 59,4%, при супраселлярных аденомах с хиазмальным синдромом – в 13,5%, при неинвазивных макропролактиномах – в 70,4–95,0%, при инвазивных – в 23,5–25,0% случаев [16, 17]. Возможность полного хирургического удаления и достижения ремиссии зависит от степени инвазии пролактином в кавернозный синус. Лучшие результаты ожидаются для аденом Knosp 0–1, чем для аденом Knosp 2–4, и для аденом Knosp 0–2, чем для аденом Knosp 3–4 [13, 18]. Риск послеоперационного рецидива пролактином коррелирует с размерами и инвазивностью опухоли. При микропролактиномах он составлял 7,1%, при



интраселлярных микро- или макропролактиномах – 11,9%, при супраселлярных аденомах без хиазмального синдрома – 24,2%, при супраселлярных аденомах с хиазмальным синдромом – 33,3% [14]. Вероятность послеоперационного рецидива пролактином также ассоциируется с величиной индекса Ki-67. При значениях Ki-67 < 1% рецидив развился у 3,9% больных, от 1 до 3% – у 4%, > 3% – у 35,0%, > 5% – у 58,3% пациентов [19]. Предполагается, что развитие послеоперационных рецидивов наиболее вероятно при инвазивных макропролактиномах (Knosp 2–4) с индексом Ki-67 > 3% [12, 20]. Показано, что достижение наиболее низких концентраций ПРЛ в первые сутки после операции предполагает тотальное удаление опухоли и низкий риск рецидива [21]. При использовании нормального уровня ПРЛ в качестве критерия ремиссии/рецидива у пациентов с микропролактиномами показатели первичной послеоперационной ремиссии составляли 74,7%, рецидива – 18,2%, долгосрочного хирургического излечения – 61,1%. При макропролактиномах – 33,9, 22,8 и 26,2% соответственно [17].

В настоящее время прогноз послеоперационного течения пролактином базируется на клинико-патологической оценке размеров, направления роста и степени агрессивности опухоли по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ), а также гистологического исследования, определении пролиферативного потенциала опухоли по величине индекса Ki-67, числу митозов более двух из десяти полей зрения и положительной реакции на p53 [12, 22]. Однако этого недостаточно для определения дальнейшей терапевтической тактики в соответствии с принципами прецизионной медицины, а именно персонализацией методов лечения на основе определения биомолекулярных и эпигенетических маркеров, позволяющих прогнозировать ответ на проводимую терапию и предотвращать неблагоприятные исходы заболеваний.

В последнее время много усилий в области исследования аденом гипофиза было направлено на поиск новых молекулярных детерминант, биомаркеров, которые помимо экспрессии мембранных рецепторов могут определять вариабельность ответа опухоли на проводимую терапию. В этом отношении большой интерес представляют молекулы β-аррестинов (β-arrestins, β-A) – многофункциональных белков, играющих важную роль в регуляции рецепторов, связанных с G-белком (G-protein-coupled receptors, GPCR). В свою очередь, GPCR представляют собой большую группу мембранных рецепторов, обеспечивающих передачу внешних сигналов внутрь клетки через активацию G-белка и играющих ключевую роль в регуляции различных физиологических процессов, включая гормональную регуляцию. Выделяют два основных типа β-аррестинов, которые широко изучены в биологии клеток и процессах передачи внутриклеточных сигналов: β-A1 и β-A2. Первоначально β-аррестины были идентифицированы как молекулы, участвующие в десенсibilизации GPCR путем предотвращения активации G-белка и способствующие эндоцитозу, а также убиквитинированию этих

рецепторов [23–25]. Кроме того, β-аррестины действуют как каркасные белки, которые организуют и активируют различные сигнальные комплексы, влияя на широкий спектр внутриклеточных процессов, таких как пролиферация, миграция, апоптоз и транскрипция [25–27]. Было показано, что β-аррестины участвуют как в канонических, так и в неканонических сигнальных путях, включая пути митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase, MAPK), которые имеют решающее значение в передаче клеточных сигналов в процессе раковой прогрессии [26, 27]. В частности, β-A2 задействован в регуляции роста раковой опухоли, инвазии и метастазирования. Он взаимодействует с многочисленными сигнальными молекулами и путями, такими как MAPK/ERK, Wnt/β-катенин и PI3K/Akt, которые играют ключевую роль в выживании и пролиферации раковых клеток [25, 26]. Помимо этого β-A2 может модулировать микроокружение опухоли и влиять на поведение раковых клеток, делая их потенциальными мишенями для терапевтического вмешательства [28, 29]. Например, предполагается, что β-A2 играет роль в эндоцитозе и десенсibilизации рецепторов соматостатина 2 и может быть связан с чувствительностью к лигандам рецепторов соматостатина у пациентов с акромегалией [27, 30, 31].

Предполагается, что β-A2 в связи с участием в регуляции GPCR и модулировании пролиферации и выживаемости клеток способен влиять на развитие и прогрессирование пролактином, воздействуя на те же механизмы, что и при других видах опухолей [26, 31, 32].

Понимание роли β-A2 при пролактиномах может открыть новые терапевтические возможности контроля опухоли и ее гормональной секреции путем модулирования передачи сигналов GPCR через воздействие на пути, опосредованные β-A2. Этот подход аналогичен стратегиям при других видах рака, когда воздействие через β-A2-пути нацелено на повышение терапевтической эффективности [28, 29, 32, 33]. В связи с установленной вовлеченностью β-A2 в патогенез инвазивности и прогрессирование опухолей различного генеза предполагается, что изучение экспрессии этой молекулы перспективно в плане определения прогноза и выбора тактики послеоперационного ведения пролактином.

Материал и методы

Методом случайной выборки проспективно в исследование были включены 27 из 50 пациентов с ПРЛ-секретирующими аденомами гипофиза, которым в период с 2007 по 2024 г. в условиях ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр» высококвалифицированным хирургом (более 1000 операций на гипофизе) была выполнена эндоназальная эндоскопическая транссфеноидальная аденомэктомия (ЭЭТА).

Клинически инвазивность пролактином оценивали по классификациям J. Hardy (1973 г.) и E. Knosp (1993 г.).

По классификации J. Hardy пролактиномы подразделяются следующим образом [34]:



- первая степень – микроаденомы, менее 10 мм в диаметре, минимально изменяют рентгенологические характеристики турецкого седла;
- вторая степень – макроаденомы, более 10 мм в диаметре, увеличивают турецкое седло или распространяются супраселлярно, не вызывая его разрушения;
- третья степень – инвазивные аденомы, частично разрушают турецкое седло, имеют супраселлярное распространение;
- четвертая степень – инвазивные аденомы, разрушают костные структуры и распространяются в гипоталамус, а также в кавернозный синус.

Согласно классификации E. Knosp, степень инвазии пролактином в кавернозные синусы определяется по расположению латеральной части опухоли относительно кавернозного сегмента внутренней сонной артерии (ВСА). Классификация E. Knosp также предполагает четыре степени пролактиномы [35]:

- первая степень – область кавернозных синусов интактна, аденома не касается медиальной линии, распространяется до центра поперечного сечения ВСА (интеркаротидной линии);
- вторая степень – аденома распространяется за интеркаротидную линию, но не заходит за латеральную линию;
- третья степень – опухоль распространяется за латеральную линию;
- четвертая степень – опухоль полностью охватывает кавернозный сегмент ВСА.

По результатам ЭТА все участники исследования были разделены на две группы: пациенты, достигшие полной послеоперационной ремиссии, и пациенты без послеоперационной ремиссии, но достигшие биохимического контроля на фоне терапии АДР в послеоперационном периоде.

Ремиссия заболевания устанавливалась на основании констатации полного удаления аденомы, согласно данным МРТ, и сохранения нормального уровня ПРЛ в сыворотке крови во всех контрольных исследованиях (через 1, 3, 6 и 12 месяцев после операции). Биохимический контроль заболевания подразумевал достижение нормальных значений ПРЛ в сыворотке крови на фоне приема АДР у пациентов с наличием остаточного фрагмента опухоли в кавернозном синусе после оперативного вмешательства.

Показания к хирургическому лечению пролактином основывались на рекомендациях международного консенсуса Гипофизарного общества 2023 г. и проекта российских клинических рекомендаций по гиперпролактинемии 2023 г. [4, 12]. Оперативное лечение проводилось при констатации полной или частичной резистентности к АДР либо по сугубо хирургическим показаниям: апоплексия в строму опухоли и увеличение ее объема с проявлениями масс-эффекта, прогрессирование хиазмального синдрома вследствие продолжающегося роста опухоли на фоне медикаментозной терапии, реализовавшаяся назоликоврея. Резистентность к АДР констатировалась в отсутствие нормализации уровня ПРЛ в сыворотке крови или соответствующего уменьшения объема (уменьшение

максимального диаметра на $\geq 30\%$) при лечении стандартными дозами АДР (бромокриптин в дозе 7,5–10,0 мг/сут или каберголин в дозе 2,0 мг/нед) как минимум в течение шести месяцев. Частичная резистентность к АДР устанавливалась в отсутствие уменьшения размера аденомы при нормализации уровня ПРЛ и наоборот [12].

Послеоперационный материал удаленной аденомы гистологически фиксировался в 10%-ном нейтральном забуференном формалине на 12–24 часов. После фиксации проводилась заливка материала в парафин (Labiko, Санкт-Петербург). Полученные парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином, далее по результатам световой микроскопии отбирались фрагменты для последующего иммуногистохимического исследования. Иммуногистохимическое исследование не проводилось в образцах опухоли с наличием очагов кровоизлияний, микрокальцинатов или макроскопических признаков термического повреждения (электрокоагуляции). Для оценки экспрессии β -A2 использовали поликлональные антитела PAB994Hu01 к ARRB2 (человек) 0,5 мл (ООО «БЕЛКИАНТИТЕЛА», октябрь 2025 г.), разведение – 1:50. Все стекла были обработаны в соответствии с протоколом производителя и с помощью его решений для поиска. Иммунореактивность β -A2 определяли с помощью ручного подсчета доли положительных клеток в нескольких полях зрения. Интенсивность иммунохимической экспрессии классифицировалась следующим образом: отсутствие экспрессии – 0, умеренная/слабая экспрессия – 1, умеренная экспрессия – 2, сильная/интенсивная экспрессия – 3. Содержание меченых клеток оценивали как 0 для 0–5% клеток, как 1 для 6–10%, как 2 для 11–50%, как 3 для 51–80%, как 4 для > 80% клеток.

Итоговая оценка определялась по формуле: иммунохимическая экспрессия = интенсивность \times процент меченых клеток. Результаты оценки ранжировались следующим образом: 0 – отрицательная экспрессия, 1–3 – слабая экспрессия, 4–6 – умеренная экспрессия, > 6 – сильная экспрессия.

Статистический анализ и визуализация полученных данных проводились с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel, Statistica 10.0 и Python 3.13. Описательные статистики представлены в виде абсолютной и относительной частот для качественных переменных, среднего \pm стандартное отклонение и медианы (1-й; 3-й квартили) – для количественных переменных с симметричным распределением, медианы (1-й; 3-й квартили) – для количественных переменных с асимметричным распределением. Соответствие выборочного распределения количественных переменных нормальному распределению определялось с использованием теста Шапиро – Уилка. Кроме того, определяли коэффициент асимметрии. В качестве критического значения использовали абсолютное значение коэффициента > 1,96. Для сравнения двух групп в отношении количественных показателей применяли тест Манна – Уитни, для сравнения более двух групп – тест Краскела – Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В качестве меры силы монотонной ассоциации двух количественных показателей использовали коэффициент

ранговой корреляции (r) Спирмена с соответствующим 95%-ным ДИ. Корреляцию считали статистически значимой при $p < 0,05$. В качестве меры силы ассоциации между бинарным исходом и количественными предикторами оценивали отношение шансов с соответствующим 95%-ным ДИ с использованием однофакторных логистических регрессионных моделей. Пороговые

значения устанавливали путем нахождения максимума статистики J Youden's, определяющей оптимальную точку отсечения, при которой достигается наилучший баланс между чувствительностью и специфичностью модели. Для построения графиков применяли пакеты R ggplot2 и dplyr.

В статье представлены результаты, достигшие статистической достоверности (p -value $< 0,05$).

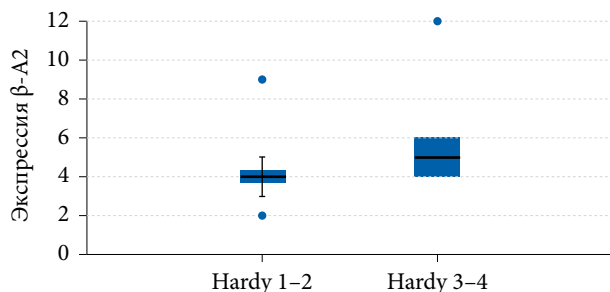
Результаты

Из 27 пациентов с ПРЛ-секретирующими аденомами гипофиза, перенесших ЭЭТА, было 17 (63%) женщин и 10 (37%) мужчин. Средний возраст участников исследования составил $42,5 \pm 13,3$ года. Показания к оперативному лечению включали полную резистентность к АДР – 6 (22%) случаев, частичную резистентность к АДР – 4 (15%) случая, исключительно хирургические показания – 17 (63%) случаев.

В общей группе уровень β -A2 варьировался от 19 до 80%, средний уровень составил $48,6 \pm 15,5\%$, медианный уровень – 48 (36; 60)%. Экспрессия β -A2 в общей группе колебалась от 2 до 12, средний уровень экспрессии составил $4,8 \pm 1,9$, медианный уровень – 4 (2; 12). Статистически значимых различий в экспрессии β -A2 в зависимости от пола, возраста и показаний к оперативному лечению не выявлено. Так, в подгруппах пациентов с полной и частичной резистентностью к АДР экспрессия β -A2 составила $5,1 \pm 1,6$, в подгруппе больных с хирургическими показаниями к операции – $4,65 \pm 2,2$ ($p = 0,3$).

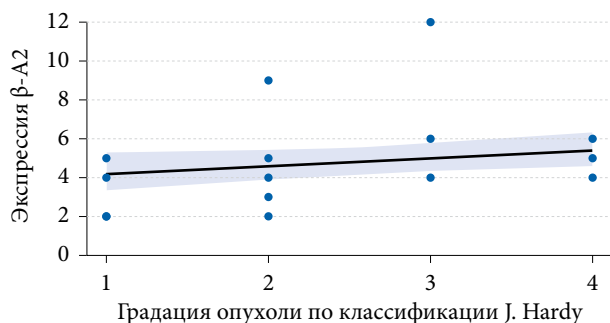
Была обнаружена не достигшая силы статистической значимости в связи с малочисленностью выборки тенденция к увеличению экспрессии β -A2 в пролактиномах в зависимости от их градаций по классификации E. Knosp: нулевая – вторая степени – 4 (4; 5), третья и четвертая степени – 5 (4; 6) ($p = 0,87$). Экспрессия β -A2 в пролактиномах, ранжированных по классификации J. Hardy как пролактиномы первой и второй степени (Hardy 1–2), составила 4,0 (3,5; 4,5), как пролактиномы третьей и четвертой степени (Hardy 3–4) – 5 (4; 6). Сравнение уровня экспрессии β -A2 между неинвазивными (Hardy 1–2) и инвазивными (Hardy 3–4) пролактиномами с использованием U-критерия Манна – Уитни выявило статистически значимые различия ($U = 51,000$; $p = 0,045$) (рис. 1). Для определения связи между инвазивностью ПРЛ-секретирующих аденом гипофиза и уровнем экспрессии β -A2 был проведен корреляционный анализ Спирмена, который показал наличие слабой, статистически значимой положительной связи увеличения экспрессии β -A2 с повышением градации опухоли по классификации J. Hardy ($r = 0,398$; $p = 0,040$) (рис. 2).

Для оценки способности модели логистической регрессии, использующей уровень экспрессии β -A2, отличать пациентов с инвазивными опухолями (Hardy 3–4) от пациентов с неинвазивными аденомами (Hardy 1–2) был проведен ROC-анализ. ROC-кривая продемонстрировала наличие умеренной дискриминационной способности исследуемой модели, что подтверждается значением площади под кривой (AUC), равным 0,72 (рис. 3).



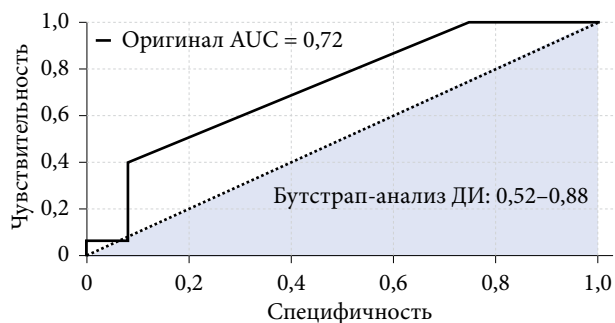
Примечание. Тест Манна – Уитни ($U = 51,000$; $p = 0,045$).

Рис. 1. Распределение экспрессии β -A2 в удаленных пролактинсекретирующих аденомах гипофиза в зависимости от степени опухолевого процесса по классификации J. Hardy



Примечание. Корреляционный анализ Спирмена ($r = 0,398$; $p = 0,040$).

Рис. 2. Связь между экспрессией β -A2 в удаленных пролактинсекретирующих аденомах гипофиза и степенью опухолевого процесса по классификации J. Hardy



Примечание. ROC-анализ ($AUC = 0,72$).

Рис. 3. ROC-кривая модели логистической регрессии на основе экспрессии β -A2 для различения высокой (Hardy 3–4) и низкой (Hardy 1–2) градации опухоли по классификации J. Hardy



Для оценки устойчивости полученной площади под ROC-кривой был проведен бутстрап-анализ с 1000 итераций, который позволил получить 95%-ный ДИ для AUC – 0,52–0,88. Поскольку нижняя граница 95%-ного ДИ бутстрап-анализа превышает 0,5, можно заключить, что уровни экспрессии β -A2 обладают статистически значимой дискриминационной способностью для разделения инвазивных (Hardy 3–4) и неинвазивных (Hardy 1–2) пролактином. Однако ширина ДИ 0,36 указывает на неопределенность в оценке AUC, что может быть связано с небольшим размером выборки. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что связь между уровнями экспрессии β -A2 и инвазивностью пролактином (степенью опухолевого процесса по классификации J. Hardy) является статистически значимой, однако требует дальнейшего подтверждения на большей выборке. Полученные данные указывают на перспективность определения экспрессии β -A2 в послеоперационном материале в качестве маркера инвазивности ПРЛ-секретирующих аденом гипофиза.

При сравнении уровня экспрессии β -A2 в пролактиномах у пациентов с разными клиническими исходами хирургического лечения – достигнута или не достигнута послеоперационная ремиссия (медианы 4 (3; 4) и 5 (4; 6) соответственно) – отмечено статистически значимое различие по критерию Манна – Уитни ($U = 36,00$; $p = 0,014$) (рис. 4). Более высокая экспрессия β -A2 была характерна для пациентов, не достигших полной послеоперационной ремиссии. Метод логистической регрессии позволил установить, что повышение экспрессии β -A2 на единицу ассоциировалось со снижением вероятности ремиссии в 4,5 раза (95% ДИ 4–6) (рис. 5).

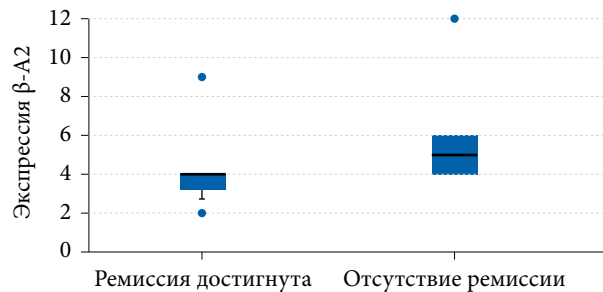
С целью оценки прогностической значимости экспрессии β -A2 в отношении достижения ремиссии пролактином после хирургического лечения были проведены логистическое регрессионное моделирование и ROC-анализ. Значение площади под ROC-кривой составило 0,775, что свидетельствует о хорошей дискриминационной способности исследуемого биомаркера. Оптимальный порог экспрессии β -A2, при котором достигалось максимальное суммарное значение чувствительности и специфичности, составил 4,0. При этом чувствительность прогноза ремиссии составляла 90,0%, специфичность – 56,2%.

Таким образом, уровень экспрессии β -A2 в удаленной пролактиноме, равный или превышающий 4,0, можно считать эффективным порогом для прогнозирования вероятности недостижения ремиссии опухоли после хирургического лечения (рис. 6).

Обсуждение

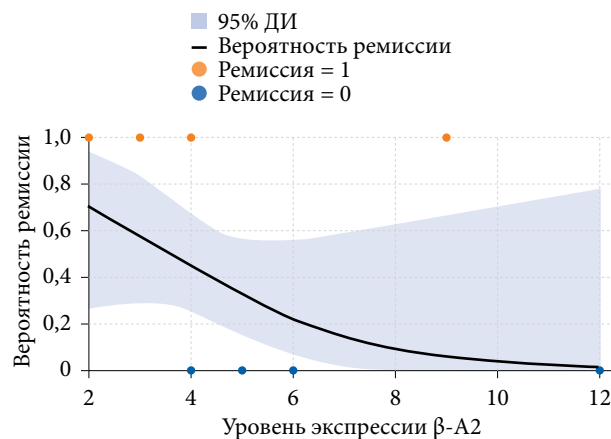
Целью данного исследования стала оценка клинико-патологической значимости экспрессии β -A2 в ПРЛ-секретирующих аденомах гипофиза и определение потенциальной роли β -A2 в прогнозировании послеоперационной ремиссии заболевания.

Нами проанализированы данные 27 пациентов, случайным образом отобранных из 50 пациентов,



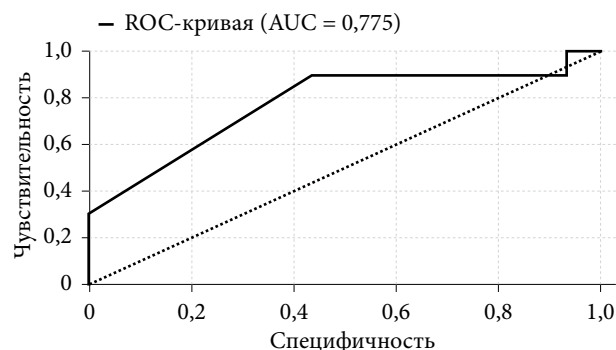
Примечание. Тест Манна – Уитни ($U = 36,00$; $p = 0,014$).

Рис. 4. Распределение экспрессии β -A2 в удаленных пролактинсекретирующих аденомах гипофиза в зависимости от исхода эндоназальной эндоскопической трансфеноидальной аденомэктомии



Примечание. Повышение экспрессии β -A2 на единицу связано со снижением вероятности послеоперационной ремиссии в 4,5 раза (95% ДИ 4–6).

Рис. 5. Вероятность достижения полной послеоперационной ремиссии в зависимости от уровня экспрессии β -A2 в удаленных пролактинсекретирующих аденомах гипофиза



Примечание. Логистическое регрессионное моделирование и ROC-анализ, ROC-анализ (AUC = 0,775), порог = 4,0, чувствительность – 90,0%, специфичность – 56,2%.

Рис. 6. Прогностическая значимость экспрессии β -A2 в удаленных пролактинсекретирующих аденомах гипофиза для оценки возможности достижения ремиссии пролактином после эндоназальной эндоскопической трансфеноидальной аденомэктомии



перенесших ЭЭТА, с последующей оценкой с помощью иммуногистохимического метода экспрессии β -A2 в ткани удаленной опухоли.

Инвазивность пролактином является одним из ключевых факторов, определяющих течение и вероятность достижения ремиссии заболевания [12, 14, 27]. В настоящее время инвазивность образований хиазмально-селлярной области в целом и пролактином в частности на дооперационном этапе может быть оценена с помощью лучевых методов (МРТ, рентгеновская компьютерная томография) по степени распространения опухоли в костные структуры и за пределы турецкого седла по классификациям J. Hardy (1973 г.) и E. Knosp (1993 г.) [34, 35]. Если расположение аденомы ограничено пределами турецкого седла (микро- или эндоселлярные макропролактиномы), однозначно судить о степени ее инвазивности не представляется возможным, поскольку в динамике опухоль малых размеров может в равной степени оказаться инвазивной или неинвазивной. Это делает актуальным изучение экспрессии молекулярных маркеров инвазивности в удаленной опухоли для прогнозирования дальнейшего клинического течения (рецидив/долгосрочная ремиссия) и выбора оптимальной тактики лечения, а также для динамического наблюдения в послеоперационном периоде. В контексте онкологических заболеваний β -A2 ассоциирован с инвазивным потенциалом и метастазированием, что показано в ряде исследований [23, 26, 28]. В связи с этим определение экспрессии β -A2 при пролактиномах представляется перспективным направлением исследований, поскольку может позволить спрогнозировать течение заболевания и его ответ на проводимое медикаментозное или оперативное лечение.

В нашей работе получена статистически значимая положительная корреляция между уровнем экспрессии β -A2 и инвазивностью пролактином, оцененной по классификации J. Hardy ($r = 0,398$; $p = 0,040$). Эти данные предполагают потенциальную вовлеченность β -A2 в процессы прогрессирования пролактином и позволяют использовать определение экспрессии β -A2 в послеоперационном материале для прогнозирования течения опухолевого процесса, особенно при невозможности радикального удаления аденомы, и решения вопроса о необходимости назначения лучевого лечения или медикаментозной антипролиферативной терапии в послеоперационном периоде. Важным результатом нашего исследования стало выявление статистически значимых различий в уровнях экспрессии β -A2 между пациентами, достигшими ремиссии после хирургического лечения (ЭЭТА), и пациентами без ремиссии, нуждавшимися в медикаментозной терапии в послеоперационном периоде ($U = 36,00$; $p = 0,014$). Для больных, достигших ремиссии, были характерны более низкие уровни экспрессии β -A2.

Логистическое регрессионное моделирование и ROC-анализ показали, что экспрессия β -A2 обладает хорошей дискриминационной способностью в прогнозировании послеоперационной ремиссии ($AUC = 0,775$), а оптимальный порог экспрессии,

равный 4,0, обеспечивает высокую чувствительность (90,0%) при умеренной специфичности (56,2%).

На основании полученных результатов можно предположить, что микро- или эндоселлярные макропролактиномы с достигнутой послеоперационной ремиссией, но демонстрирующие высокий уровень экспрессии β -A2, будут требовать более тщательного динамического послеоперационного наблюдения, чем опухоли с более низкой экспрессией β -A2.

Результаты нашего исследования в определенной мере согласуются с данными, представленными G. Di Muro и соавт. (2023 г.) [36]. Исследователи установили заинтересованность β -A2-пути в формировании резистентности пролактином к АДР. Было также показано, что селективная активация β -A2-зависимого сигнального пути рецепторов дофамина 2 с помощью селективного β -A2-смещенного АДР 2 (UNC9994) превосходит эффективность каберголина в снижении пролиферации клеток ПРЛ-секретирующих аденом гипофиза. В опухолевых клетках гипофиза крыс, секретирующих ПРЛ, UNC9994 снижал пролиферацию клеток с большей эффективностью по сравнению с каберголином ($-40,2 \pm 20,4$ против $-21,0 \pm 10,9\%$; $p < 0,05$). Исследование демонстрирует, что активация β -A2-пути более эффективна в подавлении роста пролактином, чем классическая стимуляция рецепторов дофамина 2 [36]. Этот подход может оказаться потенциально эффективным в лечении пролактином, резистентных к АДР, когда активация β -A2-зависимого сигнального пути позволяет преодолеть механизм резистентности, связанный с нарушением G-белок-зависимого сигналинга.

Результаты исследования, проведенного G. Di Muro и соавт., являются дополнительным аргументом в пользу перспективности изучения экспрессии β -A2 в пролактиномах с точки зрения подбора лекарственной терапии в послеоперационном периоде у пациентов, резистентных к АДР и не достигших хирургической ремиссии.

Результаты нашего исследования демонстрируют, что определение экспрессии β -A2 в удаленных пролактиномах позволяет спрогнозировать клиническое течение заболевания после хирургического лечения, при этом независимо от исходных размеров аденомы. Поскольку экспрессия β -A2 более 4,0 потенциально ассоциирована с высоким риском рецидива, это будет требовать более тщательного динамического наблюдения независимо от того, что пациент будет соответствовать всем критериям ремиссии в раннем послеоперационном периоде.

Более того, комбинированное определение индекса Ki-67 и экспрессии β -A2 в удаленной аденоме в перспективе позволит персонифицировать выбор препарата для пациентов, резистентных к АДР (таргетная терапия селективным β -A2-смещенным АДР 2 (UNC9994), каберголином, темозоломидом), и определить показания к лучевой терапии.


Следует отметить, что данное исследование имеет ограничения – относительно небольшой размер выборки ($n = 27$), что снижает статистическую мощность анализа и возможность выявления более устойчивых связей.



Поэтому необходимо проведение дальнейших исследований на более многочисленных когортах пациентов.

Выводы

В настоящем исследовании установлены связь между повышением экспрессии β -A2 и увеличением степени инвазивности пролактинсекретирующих аденом гипофиза, определяемой по классификации J. Hardy, а также возможность использования β -A2 в качестве

перспективного прогностического биомаркера достижения ремиссии пролактином после хирургического лечения. Уровни экспрессии β -A2 в ткани удаленной пролактиномы менее 4,0 ассоциируются с более высокой вероятностью достижения полной послеоперационной ремиссии. 

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке молодежного гранта Академии наук Республики Татарстан № 09-01-яГ, 2023 г.

Литература

- Ezzat S., Asa S.L., Couldwell W.T., et al. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer*. 2004; 101 (3): 613–619.
- Ostrom Q.T., Cioffi G., Waite K., et al. CBTRUS Statistical Report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2014–2018. *Neuro Oncol*. 2021; 23 (12 Suppl. 2): iii1–iii105.
- Chanson P., Maiter D. The epidemiology, diagnosis and treatment of prolactinomas: the old and the new. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. 2019; 33 (2): 101290.
- Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Дзеранова Л.К. и др. Клинические рекомендации «Гиперпролактинемия» (проект). *Ожирение и метаболизм*. 2023; 20 (2): 170–188.
- Molitch M.E. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients. *Pituitary*. 2003; 6 (1): 19–27.
- Vroonen L., Jaffrain-Rea M.L., Petrossians P., et al. Prolactinomas resistant to standard doses of cabergoline: a multicenter study of 92 patients. *Eur. J. Endocrinol*. 2012; 167 (5): 651–662.
- Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2011; 96 (2): 273–288.
- Федеральная служба государственной статистики. Росстат // <http://www.gks.ru> (дата обращения – 07.06.2019).
- Hu J., Zheng X., Zhang W., Yang H. Current drug withdrawal strategy in prolactinoma patients treated with cabergoline: a systematic review and meta-analysis. *Pituitary*. 2015; 18 (5): 745–751.
- Vilar L., Albuquerque J.L., Gadelha P.S., et al. Second attempt of cabergoline withdrawal in patients with prolactinomas after a failed first attempt: is it worthwhile? *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2015; 6: 11.
- 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. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2018; 9: 636.
- Petersenn S., Fleseriu M., Casanueva F.F., et al. Diagnosis and management of prolactin-secreting pituitary adenomas: a Pituitary Society International Consensus Statement. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2023; 19 (12): 722–740.
- Cozzi R., Giovanelli M., Minuto F., et al. Italian guidelines for the management of prolactinomas. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. 2023; 23 (12): 1459–1479.
- Honegger J., Buchfelder M., Schlaffer S.M., et al. Surgery for prolactinomas: a better choice? *Pituitary*. 2019; 22 (6): 605–614.
- Lu J., Cai L., Wu Z., et al. Surgery and medical treatment in microprolactinoma: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Endocrinol*. 2021; 2021: 9930059.
- Giese S., Nasi-Kordhishti I., Honegger J. Outcomes of transsphenoidal microsurgery for prolactinomas – a contemporary series of 162 cases. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2021; 129 (3): 163–171.
- Gillam M.P., Molitch M.E., Lombardi G., Colao A. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr. Rev*. 2006; 27 (5): 485–534.
- Abou-Al-Shaar H., Mallela A.N., Patel A., et al. The role of endoscopic endonasal surgery in the management of prolactinomas based on their invasiveness into the cavernous sinus. *Pituitary*. 2022; 25 (3): 508–519.
- Исмаилов Д.Б. Хирургическое лечение пролактин-секретирующих аденом гипофиза: автореф. дис. ... канд. наук. М., 2021.
- Zielinski G., Ozdarski M., Maksymowicz M., et al. Prolactinomas: prognostic factors of early remission after transsphenoidal surgery. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020; 11: 439.
- Andereggen L., Christ E. Predictors of favorable long-term outcomes in first-line surgery for microprolactinomas. *J. Neurooncol*. 2025; 172 (3): 613–623.
- Raverot G., Ilie M.D., Lasolle H., et al. Aggressive pituitary tumours and pituitary carcinomas. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2021; 17 (11): 671–684.
- Aamna B., Kumar D.A., Sahu R., et al. Deciphering the signaling mechanisms of β -arrestin 1 and β -arrestin 2 in regulation of cancer cell cycle and metastasis. *J. Cell. Physiol*. 2022; 237 (10): 3717–3733.
- Barsi-Rhyne B., Manglik A., von Zastrow M. Discrete GPCR-triggered endocytic modes enable β -arrestins to flexibly regulate cell signaling. *Elife*. 2022; 11: e81563.
- Smith J.S., Rajagopal S. The β -arrestins: multifunctional regulators of G protein-coupled receptors. *J. Biol. Chem*. 2016; 291 (17): 8969–8977.



26. Song Q., Ji Q., Li Q. The role and mechanism of β -arrestins in cancer invasion and metastasis (review). *Int. J. Mol. Med.* 2018; 41 (2): 631–639.
27. DeWire S.M., Ahn S., Lefkowitz R.J., Shenoy S.K. Beta-arrestins and cell signaling. *Annu. Rev. Physiol.* 2007; 69: 483–510.
28. Rosanò L., Bagnato A. New insights into the regulation of the actin cytoskeleton dynamics by GPCR/ β -arrestin in cancer invasion and metastasis. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2019; 346: 129–155.
29. Kallifatidis G., Smith D.K., Morera D.S., et al. β -Arrestins regulate stem cell-like phenotype and response to chemotherapy in bladder cancer. *Mol. Cancer Ther.* 2019; 18 (4): 801–811.
30. Gatto F., Feelders R.A., Kros J.M., et al. β -Arrestin 1 and 2 and G-protein-coupled receptor kinase 2 expression in pituitary adenomas: role in the regulation of response to somatostatin analogue treatment in patients with acromegaly. *Endocrinology.* 2013; 154 (12): 4715–4725.
31. Coelho M.C.A., Vasquez M.L., Wildemberg L.E., et al. Molecular evidence and clinical importance of β -arrestins expression in patients with acromegaly. *J. Cell. Mol. Med.* 2018; 22 (4): 2110–2116.
32. Shukla A., Dwivedi-Agnihotri H. Structure and function of β -arrestins, their emerging role in breast cancer, and potential opportunities for therapeutic manipulation. *Adv. Cancer Res.* 2020; 145: 139–156.
33. Cismas S., Pasca S., Crudden C., et al. Competing engagement of β -arrestin isoforms balances IGF1R/p53 signaling and controls melanoma cell chemotherapeutic responsiveness. *Mol. Cancer Res.* 2023; 21 (12): 1288–1302.
34. Hardy J. Transsphenoidal surgery of hypersecreting pituitary tumors // *Diagnosis and treatment of pituitary tumors* / by ed. P.O. Kohler, G.T. Ross. Amsterdam: Excerpta Medica, 1973.
35. Knosp E., Steiner E., Kitz K., Matula C. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery.* 1993; 33 (4): 610–617.
36. Di Muro G., Mangili F., Esposito E., et al. A β -arrestin 2-biased dopamine receptor type 2 (DRD2) agonist is more efficacious than cabergoline in reducing cell proliferation in PRL-secreting but not in non-functioning pituitary tumor cells. *Cancers (Basel).* 2023; 15 (13): 3218.

Evaluation of β -Arrestin 2 Expression as a Prognostic Marker of Clinical Course and Postoperative Remission of Prolactin-Secreting Pituitary Adenomas

F.A. Nasybullina^{1,2}, G.R. Vagapova, MD, PhD, Prof.^{1,3}, R.R. Ashimova^{1,3}, A.R. Khafizov³, B.Yu. Pashaev^{3,4}

¹ Kazan State Medical Academy – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education

² City Clinical Hospital No. 7 named after M.N. Sadykov, Kazan

³ Interregional Clinical Diagnostic Center, Kazan

⁴ Kazan State Medical University

Contact person: Farida A. Nasybullina, nasybullinaf@mail.ru

Pituitary adenomas account for up to 15% of all intracranial tumors, while a 53% of them are prolactin-secreting tumors. Despite the availability of effective medication, up to 20% of patients demonstrate resistency to dopamine receptor agonists, due to complex molecular mechanisms, including β -arrestin-dependent signaling pathways.

Objective – to evaluate the clinical and pathological significance of β -arrestin 2 (β -A2) expression in prolactinomas and its role in predicting remission after surgical treatment.

Material and methods. An expression of a β -A2 in the tumor tissue obtained from the postoperative material was determined by immunohistochemistry with subsequent quantitative assessment in 27 patients who underwent endonasal endoscopic transsphenoidal adenomectomy. Clinically prolactinoma invasiveness was assessed with regard to the classifications of J. Hardy (1973) and E. Knosp (1993). Statistical processing was performed using correlation analysis, logistic regression and ROC analysis.

Results. Less invasive prolactinomas (Hardy grades 1 and 2) demonstrated lower β -A2 expression compared to invasive tumors (Hardy grades 3 and 4): medians – 4.0 (3.5; 4.5) and 5.0 (4.0; 6.0) respectively ($U = 51.000$; $p = 0.045$). Correlation analysis showed a positive relationship between increased β -A2 expression and an increase in the degree of prolactinoma invasiveness ($r = 0.398$; $p = 0.040$). Patients with postoperative remission had a lower level of β -A2 expression comparing to those who did not achieve remission after transnasal surgery: medians 4 (3; 4) and 5 (4; 6), respectively ($p = 0.014$). Logistic regression analysis showed good prognostic ability of determining β -A2 expression to assess the probability of achieving complete postoperative remission of prolactinomas ($AUC = 0.775$). The optimal expression threshold was 4.0, with a 90.0% of sensitivity and 56.2% of specificity.

Conclusion. The present study established a relationship between increased β -A2 expression and an increased degree of invasiveness of prolactin-secreting pituitary adenomas according to the J. Hardy classification, and demonstrated the possibility of using β -A2 as a promising prognostic biomarker for the probability of achieving remission of prolactinomas after surgical treatment. β -A2 expression levels in the tissue of removed prolactinoma below 4.0 were associated with a higher probability of achieving complete postoperative remission.

Keywords: β -arrestin 2, prolactinoma, invasiveness, resistance to dopamine receptor agonists, surgical treatment, remission