doi: 10.17116/neiro2015796107-114

Оценка биологического поведения АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза при помощи различных методов

К.м.н. А.М. ЛАПШИНА, проф. Е.И. МАРОВА

ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва

Цель настоящего обзора литературы — изучение маркеров, полученных в результате различных методов исследования, для оценки биологического поведения АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза. В данной работе представлены клинические, лабораторно-инструментальные, гистологические и иммуногистохимические аспекты АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза. Гистологический метод позволяет оценить строение опухоли и провести дифференциальную диагностику от других патологических процессов в области турецкого седла. Иммуногистохимический метод дает возможность определить экспрессию многочисленных маркеров (ростовые факторы фибробластов, матриксные металлопротеиназы, факторы апоптоза, гипофизарный опухольтрансформирующий ген, сосудистые маркеры), которые отражают различные процессы онкогенеза изучаемых опухолей, и, по мнению авторов, являются перспективными в отношении прогноза биологического поведения кортикотропином. Эпигенетические исследования с изучением экспрессии микроРНК, протеомика и транскриптомика являются новыми методами в данной области, от которых ожидается получить дополнительную информацию относительно прогноза кортикотропином. Таким образом, совокупная оценка лабораторных, инструментальных методов, изучение иммуноэкспрессии маркеров злокачественного потенциала в ткани кортикотропином, микроРНК позволят прогнозировать дальнейшее биологическое поведение АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза.

Ключевые слова: *АКТГ-секретирующие опухоли гипофиза, оценка и маркеры злокачественного потенциала.*

Evaluation of the biological behavior of ACTH-secreting pituitary tumors using various methods

A.M. LAPSHINA, E.I. MAROVA

Endocrinology Scientific Center, Moscow, Russia

This literature review is aimed at studying markers obtained by various research methods to assess the biological behavior of ACTH-secreting pituitary tumors. This paper presents the clinical, laboratory, instrumental, histological, and immunohistochemical aspects of ACTH-secreting pituitary tumors. Histological method allows assessing the structures of a tumor and differential diagnosis of other pathological processes in the sella turcica. Immunohistochemical method enables determining the expression of multiple markers (fibroblast growth factors, matrix metalloproteinases, apoptotic factors, pituitary tumor transforming gene, and vascular markers), which reflect various processes of oncogenesis of studied tumors, and, according to the authors, are promising with regard to predicting biological behavior using corticotropin. Epigenetic investigations including the study of micro-RNA expression, proteomics, and transcriptomics are the new methods in this area, which are expected to provide additional details regarding the prediction using corticotropin. Thus, the cumulative assessment using laboratory and instrumental methods, the study of immunoexpression of malignant potential markers in the tissue using corticotropin and micro-RNA allow predicting the future biological behavior of ACTH-secreting pituitary tumors.

Keywords: *ACTH-secreting pituitary tumor, evaluation and markers of malignant potential.*

Аденомы гипофиза являются нейроэндокринными опухолями, которые происходят из клеток аденогипофиза. Ранее считалось, что опухоли гипофиза составляют около 10% внутричерепных новообразований. Однако значительное усовершенствование методов радиологического и гормонального исследований увеличивает количество диагностированных случаев до 25%, из них на долю гормонально-активных кортикотропином приходится 10—15% [1, 2].

Течение и клиническая картина опухолей гипофиза разнообразны (при избыточной секреции различных тропных гормонов гипофиза или отсутствии гормональной гиперпродукции). В обоих случаях при экстраселлярном росте опухолей может происходить повреждение окружающих структур центральной нервной системы (ЦНС). Подавляющее большинство аденом гипофиза (около 98—99%) являются доброкачественными новообразованиями. Однако вопрос, касающийся определения прогноза дальнейшего течения аденом гипофиза и эффективности различных видов лечения, остается открытым. Так, за последние несколько десятилетий проведено множество исследований для определения маркеров, которые могут быть ассоциированы с течением аденом гипофиза и повышенным злокачественным потенциалом: инвазивным ростом в окружающие структуры ЦНС, развитием рецидивов после различных видов лечения и по-

© А.М. Лапшина, Е.И. Марова, 2015

e-mail: nottoforget@yandex.ru

явлением метастазов (при карциномах гипофиза). В результате исследованы многочисленные молекулярные и иммуногистохимические маркеры, которые указывают на агрессивный потенциал аденом гипофиза.

Анализ биологического поведения кортикотропином будет неполным, если оценивать разрозненные данные различных методов. Очень важно оценивать в совокупности клиническую картину, данные лабораторных и инструментальных методов исследования. Оценка гистологического строения и иммунофенотипа полученных образцов ткани удаленных опухолей позволяет провести дифференциальную диагностику аденом гипофиза от других патологических процессов в области турецкого седла, определить гормональную, пролиферативную активность, рецепторный статус и др. С этой же целью дополнительно можно использовать молекулярно-генетические методы.

Анализ клинической картины и исследование крови на содержание тропных гормонов гипофиза необходимы для понимания профиля гормональной продукции опухоли, суждения об активности заболевания, оценки результатов проведенного лечения (достижения клинико-биохимической ремиссии или прогрессии опухоли после хирургического, медикаментозного или радиологического методов лечения) [3].

Для оценки размера, направления роста опухоли гипофиза и поражения окружающих структур ЦНС наиболее важную роль играет магнитно-резонансная томография (МРТ). МРТ является оптимальной для диагностики аденом гипофиза в режиме Т1 с толщиной среза 3 мм. Для более четкой визуализации микроаденомы за счет различий в васкуляризации ткани опухоли и сохранного аденогипофиза проводится МРТ с контрастным усилением (ткань аденогипофиза интенсивнее накапливает контрастное вещество, а ткань опухоли демонстрирует «дефект накопления») [4]. Особенно важно отметить, что МРТ позволяет оценить наличие инвазивного роста. J. Trouillas и соавт. [5] показали, что наличие или отсутствие инвазивного роста опухоли гипофиза по данным МРТ является главным прогностическим фактором (при помощи многофакторного анализа и ROC-кривой) в отношении развития ремиссии или рецидива после нейрохирургического удаления указанных новообразований. Также известно, что МРТ является более ценным методом обнаружения инвазивного роста по сравнению с гистологическим методом. При гистологическом исследовании возможно определить только 9% инвазивных опухолей [6].

Другая проблема при верификации кортикотропином может быть связана с отсутствием опухоли на МРТ. В такой ситуации для подтверждения АКТГ-секретирующей опухоли гипофиза рекомендуется провести забор крови из кавернозных синусов со стимуляцией десмопрессином [3].

Гистологическое исследование кортикотропином с окраской гематоксилином и эозином позволяет определить гистологическое строение опухоли и при необходимости провести дифференциальную диагностику от других патологических процессов в области турецкого седла: метастазов, краниофарингиом, различных видов кист, воспалительных изменений, гиперплазии аденогипофиза [7].

АКТГ-секретирующие аденомы чаще всего локализуются интраселлярно и располагаются в среднем секторе гипофиза. Макроскопически ткань кортикотропином красного цвета, мягкой консистенции и отличается от желтовато-коричневого, плотного гипофиза. Микроскопически иногда сложно отличить опухолевую ткань от окружающего гипофиза за счет слабо выраженной капсулы или ее отсутствия [8].

По данным электронной микроскопии, среди кортикотропином выделяют плотно гранулированные и редко гранулированные опухоли. В настоящее время электронную микроскопию заменил более простой и менее трудоемкий метод иммуногистохимического исследования при помощи антител к низкомолекулярному кератину CAM 5.2, а также при помощи шик-реакции. Плотно гранулированные кортикотропиномы состоят из мономорфных круглых базофильных клеток с выраженной диффузной иммуноэкспрессией АКТГ (около 60% — моногормональные, остальные могут экспрессировать различные тропные гормоны гипофиза, а также CAM 5.2). Митозы в них выявляются редко, индекс метки Ki-67 низкий (до 1%).

Редко гранулированные кортикотропиномы состоят из хромофобных клеток с диффузным характером роста и образованием синусоидных структур вокруг капилляров. Часто имеются клеточный и ядерный полиморфизм, признаки апоптоза, митозы очень редки. Иммуногистохимическая реакция с антителами к АКТГ слабая, окрашиваются очаги опухолевых клеток, выявляются выраженная экспрессия CAM 5.2 и слабая шик-реакция.

Весьма редко встречаются так называемые круковские аденомы, которые состоят из крупных хромофобных или эозинофильных клеток с выраженными круковскими гиалиновыми изменениями (при накоплении кератина цитоплазма становится стекловидной), которые возникают при воздействии на клетки гипофиза высокого уровня кортизола. В результате отложения кератина в цитоплазме АКТГ-позитивные гранулы смещаются на периферию опухолевых клеток или в околоядерное пространство. Окрашивание с антителами к CAM 5.2 принимает вид кольца вокруг ядра клетки. Такие крупные полиморфные клетки необходимо дифференцировать от нейронов ганглиоцитомы или метастатических карцином другой локализации. Иммуноэкспрессия Tpit (T-box transcription factor) позволяет подтвердить дифференцировку клеток из кортикотрофов [9].

У пациентов с болезнью Иценко—Кушинга (БИК) размер опухоли и ее распространение в турецком седле не всегда ассоциируется с выраженностью симптоматики, обусловленной избыточной продукцией АКТГ. Классическое течение БИК обычно связано с наличием микроаденомы гипофиза (70—90%), гистологическое исследование которой выявляет плотно гранулированную кортикотропиному [9, 10]. Остальные макрокортикотропиномы по гистологическому строению являются редко гранулированными или представляют собой аденомы с круковскими изменениями [11]. Клинически макроаденомы чаще всего характеризуются циклическим течением, либо неполной картиной гиперкортицизма, или же отсутствием гормональной активности со склонностью к опухолевой прогрессии после различных видов лечения [12].

Тщательное исследование ткани, окружающей опухоль гипофиза, может дать дополнительную информацию. В случаях когда в операционном материале отсутствует опухоль гипофиза, при гистологическом исследовании возможно определить наличие круковских изменений в ткани гипофиза вне опухоли. Это доказывает нали-

чие гиперкортизолемии, которая таким образом воздействует на клетки аденогипофиза [9, 13, 14].

После удаления кортикотропином возникает вопрос о прогнозе дальнейшего течения заболевания.

Классификация ВОЗ 2004 г. [8] выделяет типичные и атипичные аденомы гипофиза, карциномы гипофиза. К диагностическим критериям типичных аденом относят отрицательную иммуноэкспрессию p53, индекс метки Ki-67 менее 3%, низкую митотическую активность. Для атипичных аденом характерны избыточная иммуноэкспрессия p53, индекс метки Ki-67 более 3%, высокая митотическая активность. Принципиальное отличие карцином от аденом гипофиза заключается в наличии краниоспинальных и/или отдаленных метастазов.

При исследовании ткани 121 аденомы гипофиза G. Zada и соавт. [15] обнаружили 15% атипичных аденом: гормонально-активные (соматотропиномы, *n*=32, из них 5 атипичных, кортикотропиномы, *n*=12, из них 2 атипичные, пролактиномы, *n*=18, из них 2 атипичные) и неактивные опухоли (*n*=58, из них 9 атипичных). Однако в этой работе не проводилось динамического наблюдения за пациентами после удаления опухолей.

В работе W. Saeger [7] показано значительно меньшее количество атипичных аденом. Всего исследована 451 аденома гипофиза, из которых атипичных было 12 (2,7%). Среди атипичных аденом обнаружены 3 соматотропиномы, 1 пролактинома, 3 кортикотропиномы, 1 гонадотропинома, 3 нульклеточных аденомы и 1 плюригормональная аденома. Такое расхождение можно объяснить тем, что были использованы различные критерии в оценке результатов.

Ряд экспертов предлагают внести уточнения в классификацию аденом гипофиза, в которой бы учитывались клиническая картина и данные лабораторно-инструментальных исследований, результаты оперативного лечения и дальнейшее течение заболеваний.

G. Raverot и соавт. [6] предлагают использовать более подробную клинико-патологическую классификацию опухолей гипофиза, которая основана на следующих характеристиках.

1. Размер опухоли по данным МРТ: микроаденома (менее 10 мм), макроаденома (более 10 мм), гигантские опухоли (более 40 мм).

2. Гормональный профиль опухоли по данным иммуногистохимического исследования: СТГ-, ПРЛ-, АКТГ-, ЛГ/ФСГ- и ТТГ-секретирующие аденомы.

3. Стадия развития опухоли согласно следующим критериям:

— ивазивный рост опухоли в кавернозный или сфеноидальный синусы по данным гистологического исследования и МРТ;

— пролиферативная активность по наличию двух признаков из трех: митозы (более 2 на 10 полей зрения)>; индекс метки Ki-67 не менее 3%; позитивный p53 (более 10 окрашенных ядер в 10 полях зрения).

Таким образом, на основании указанных характеристик выделяют три стадии развития опухоли:

1a — неинвазивная;

1b — неинвазивная и пролиферирующая;

2a — инвазивная;

2b — инвазивная и пролиферирующая;

3 — метастазирующая, с развитием цереброспинальных или отдаленных метастазов (карцинома гипофиза).

Пролиферативная активность аденом гипофиза оценивается по наиболее распространенным маркерам (количество митозов, Ki-67 и p53). Учитывая противоречивую значимость этих маркеров, особенно Ki-67, недостаточно определенные методологические стандарты и установленные пренебрегаемые величины для p53, авторы классификации предлагают использовать хотя бы два из трех указанных критериев пролиферативной активности: более двух митозов на 10 полей зрения и индекс метки Ki-67 не менее 3%, так же как и для эндокринных опухолей поджелудочной железы [16].

Авторы полагают, что представленная классификация имеет весомое прогностическое значение относительно послеоперационного периода для всех видов аденом гипофиза. В течение 8 лет вероятность прогрессии опухоли возрастает в 12 раз, если у пациента имеется инвазивная и пролиферирующая опухоль (2b стадия), по сравнению с неинвазивной и непролиферирующей опухолью (1a стадия) [17].

Ранее и в настоящее время возникают проблемы в диагностике карцином гипофиза. Карциномами гипофиза считаются опухоли, происходящие из клеток аденогипофиза, с распространением метастазов в ЦНС и отдаленные органы (классификация ВОЗ, 2004). По различным данным, злокачественные опухоли гипофиза встречаются в 0,2—1% случаев с наличием подтвержденных краниальных и/или спинальных метастазов. Всего в литературе [6, 18] описаны 132 случая карцином гипофиза за 1961—2009 гг. Большинство из них — гормонально-активные карциномы: 36% пролактином и 30% кортикотропином, гормонально-неактивных — около 23%.

Макроскопически большинство карцином гипофиза не отличаются от инвазивных макроаденом. Основными признаками карцином являются продолженный рост в виде одного или нескольких субарахноидальных узлов с инвазией в подлежащую ткань мозга или твердую оболочку.

У большинства злокачественных опухолей гипофиза наблюдается инвазивный рост в структуры турецкого седла (твердая оболочка, кости, кавернозные синусы, черепные нервы), гипоталамус. В структуры ЦНС опухоль распространяется по спинномозговой жидкости. Системные метастазы распространяются гематогенным путем через кавернозные синусы и яремную вену с поражением печени, легких, костей, надпочечников, сердца и даже яичников. При инвазивном росте в основание черепа и мягкие ткани опухоль диссеминирует через лимфоузлы шеи.

До настоящего времени не обнаружены гистологические, иммуногистохимические или ультраструктурные признаки, с помощью которых можно надежно диагностировать злокачественные опухоли гипофиза, особенно в тех случаях, когда опухоль не распространяется за пределы турецкого седла [19].

По микроскопическому строению карциномы гипофиза в той или иной степени напоминают аденомы и отличаются только наличием метастазов. Митотическая активность также может варьировать и обнаруживается в 3,9% неинвазивных аденом, 21,4% инвазивных аденом и 66,7% карцином.

Карциномы, так же как и аденомы, иммунопозитивны к различным гипофизарным гормонам (чаще всего экспрессируют ПРЛ и АКТГ с развитием соответствующей клинической картины), нейроэндокринным маркерам (хромогранин А и синаптофизин).

При сравнении экспрессии гена супрессии опухоли (TP53) в аденомах была обнаружена недостаточная экс-

прессия этого маркера, а в 15% инвазивных аденом и 100% карцином и их метастазах — выраженная иммуноэкспрессия. В большинстве карцином показано наличие p53, p27, топоизомеразы-2а (регулирует репликацию ДНК), VEGF, HER-2/neo, редко в карциномах имеются ингибиторы клеточного цикла по сравнению с нормальным аденогипофизом. Индекс метки Ki-67 наиболее высокий в карциномах (12%) по сравнению с инвазивными (4,5%) и неинвазивными (1%) аденомами [8].

Средняя выживаемость пациентов равняется 2 годам и сокращается при обнаружении метастазов до 1 года и менее. Продолженный рост опухоли, по данным МРТ, нарастание симптомов гипопитуитаризма или значительное повышение уровня гормонов, исчезновение чувствительности к агонистам дофамина или аналогам соматостатина являются неблагоприятными прогностическими факторами.

За последние годы были проведены многочисленные работы, в которых исследовано большое количество биологических маркеров, ассоциированных с неблагоприятным течением аденом гипофиза (инвазивные свойства, опухолевая прогрессия). Однако до сих пор не найден ни один маркер, который самостоятельно можно было бы использовать для определения прогноза поведения опухолей гипофиза.

В данном обзоре литературы представлен ряд биологических маркеров (ростовые факторы фибробластов, матриксные металлопротеиназы, факторы апоптоза, гипофизарный опухоль-трансформирующий ген, сосудистые маркеры), определяемых при помощи иммуногистохимического исследования, которые считаются прогностически наиболее точными относительно биологического поведения аденом гипофиза.

В гипофизе найдена экспрессия ростовых факторов фибробластов второго и четвертого типов (РФФ2, РФФ4), которые регулируют рост, дифференцировку, миграцию клеток и ангиогенез [21]. Наиболее высокая экспрессия этих факторов найдена в кортикотропиномах по сравнению с соматотропиномами и пролактиномами. Это может быть связано с вовлечением РФФ в патогенез АКТГ-секретирующих опухолей. При потере РФФ2 в опухоли возникает активация MAGE-A3 (melanoma-associated antigen A3-антиген А3, ассоциированный с меланомой) [49] и видоизмененной изоформы РФФ4, что приводит к инвазивному росту опухолевых клеток *in vivo* и потере экспрессии N-кадгерина на мембране клеток. Кроме того, видоизмененная изоформа РФФ4 взаимодействует с NCAM (neuronal cell adhesion molecules — молекулы нейрональной клеточной адгезии), что также ассоциируется с инвазивными свойствами аденом гипофиза.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — это семейство одноцепочечных цинксодержащих протеолитических ферментов, которые регулируют состояние внеклеточного матрикса в физиологических и патологических условиях. Описаны 8 различных классов металлопротеиназ, в которые входят 24 функциональных типа. ММП проникают в такие структуры внеклеточного матрикса, как коллагеновые волокна, ламинин, фибронектин, витронектин и протеогликаны. Источником ММП являются клетки инвазивных опухолей, фибробласты, макрофаги и др. [20]. ММП, в частности 9-го типа, разрушают коллагеновые волокна 4, 5 и 10-го типов, эластин, фибронектин, белки, связанные с протеогликанами. ММП9 и ММП2 экспрессируются эндотелиальными клетками сосудов и клетками стромы. Экспрессия ММП9 найдена в злокачественных опухолях молочной железы, легких. В аденомах гипофиза экспрессия ММП значительно выше в инвазивных опухолях [21—23].

Учитывая описанные свойства ростовых факторов фибробластов и матриксных металлопротеиназ, изучение данных маркеров признается перспективным в отношении определения неблагоприятного прогноза кортикотропином.

Процесс апоптоза в опухолях гипофиза мало изучен. Аденомы гипофиза — это новообразования с низкой пролиферативной активностью (небольшое количество митозов, низкий индекс метки Ki-67) и низким уровнем апоптоза. Апоптоз и митотическая активность — это по своей сути противоположные процессы. В новообразованиях другой локализации обычно нарушен баланс между антипролиферативной активностью и пролиферацией опухолевых клеток в сторону последней. Однако в аденомах гипофиза эти процессы однонаправлены. В карциномах гипофиза показан высокий уровень пролиферации и апоптоза [24].

В связи с низкой активностью процессов апоптоза в аденомах гипофиза сложно определить опухолевые клетки с апоптотическими изменениями при рутинном гистологическом исследовании. На ранней стадии апоптоза отмечается пикноз ядра и дальнейшая конденсация хроматина с неровными контурами. Размер клетки уменьшается, цитоплазма становится компактной. Клетки постепенно теряют связь с окружающими структурами. Затем происходит фрагментация ядра в мелкие пикнотические частицы с формированием апоптотических телец.

Процесс апоптоза также возможно изучать при помощи электронной микроскопии, иммуногистохимического исследования, цитометрического анализа и TUNEL-методики.

При иммуногистохимическом исследовании около 30% гипофизарных аденом различных типов экспрессируют Bcl-2. Bcl-2 — это внутриклеточный белковый фактор, который подавляет апоптоз во многих клеточных системах, включая лимфогематопоэтические и нейрональные клетки, регулирует клеточную смерть, контролируя проницаемость митохондриальной мембраны. Практически все гормонально-активные и значительное количество гормонально-неактивных опухолей иммунопозитивны к проапоптотическому белку bax. Нарушение экспрессии Bcl-2 и bax наблюдается в опухолях гипофиза и играет важную роль в регуляции механизмов апоптоза. Среди различных аденом гипофиза в кортикотропиномах наиболее часто определяются апоптотические изменения при электронной микроскопии. По данным различных работ, не обнаружено достоверной разницы в уровне апоптоза в микро- и макроаденомах гипофиза. В ряде исследований [25—27] было показано, что экспрессия проапоптотических молекул bax и bad снижена в инвазивных аденомах гипофиза по сравнению с неинвазивными.

Интересные данные получены C. Tanase [28] при исследовании функциональных белков, участвующих в процессе апоптоза: активирующего фактора-1 апоптотической протеазы (apoptotic protease-activating factor-1, APAF-1) и катепсина-В при помощи иммуногистохимического метода с указанными антителами, вестерн-блота и хемилюминесценции. Катепсин-В – это лизосомальная протеаза, которая вносит вклад в дезинтеграцию внеклеточного матрикса за счет активации ММП, а также уча-

ствует в активации апоптотических и супрессии антиапоптотических генов. В исследование были включены образцы ткани 30 аденом гипофиза (из них 16 были гормонально-активные, 22 — с инвазивным ростом) для сравнения экспрессии APAF-1 и катепсина-B в группах инвазивных и неинвазивных аденом. В инвазивных аденомах показана сниженная экспрессия APAF-1, которая ассоциировалась с повышенным индексом метки Ki-67 и положительной экспрессией p53. При исследовании экспрессии APAF-1 и катепсина-B по отношению друг к другу наблюдалась обратная корреляция. Повышенная экспрессия катепсина-B наблюдалась в инвазивных аденомах и коррелировала с высоким индексом метки Ki-67 и положительной экспрессией p53.

В последних работах описан еще один маркер, отражающий процессы апоптоза. Сурвивин является одним из членов семейства ингибиторов апоптоза. В указанных исследованиях описаны результаты сравнения экспрессии сурвивина в ткани нормального гипофиза, инвазивных и неинвазивных гормонально-активных аденом гипофиза при помощи иммуногистохимического и ПЦР-методов. Была показана гиперэкспрессия сурвивина в аденомах гипофиза по сравнению с нормальной гипофизарной тканью, а также в инвазивных по сравнению с неинвазивными аденомами [29, 30].

Таким образом, исследование расширенной панели маркеров приведет к большему пониманию процессов апоптоза и пролиферации в опухолях гипофиза, а также позволит использовать их в качестве предикторов неблагоприятного прогноза.

Следующим важным маркером является гипофизарный опухольтрансформирующий ген (Pituitary tumor-transforming gene — PTTG). Экспрессия гипофизарного опухольтрансформирующего гена наблюдается во многих опухолях, происходящих из органов эндокринной системы (в том числе и в опухолях гипофиза) и других систем. PTTG участвует в таких клеточных и тканевых процессах, как пролиферация, репарация ДНК, стимуляция и угнетение апоптоза, активация ангиогенеза, инвазия, индукция генной нестабильности [31].

В опухолях гипофиза показана гиперэкспрессия PTTG по сравнению с нормальной тканью гипофиза, в которой наблюдаются низкая экспрессия или ее отсутствие [32].

При иммуногистохимическом исследовании наблюдается цитоплазматическая реакция в большинстве опухолевых клеток гипофиза, реже — ядерная. Ряд проведенных исследований показал, что ядерная иммуногистохимическая реакция с антителами к PTTG (наряду с митотической активностью, индексом метки Ki-67 и p53) в опухолевых клетках гипофиза является ценным прогностическим маркером в отношении биологического поведения. X. Zhang и соавт. [33, 34] и A. Wierinckx и соавт. [35] в своих работах обнаружили гиперэкспрессию микроРНК PTTG в инвазивных гормонально-активных опухолях гипофиза. В гормонально-неактивных аденомах гипофиза не показана корреляция между уровнем экспрессии PTTG и наличием инвазии. M. Filippella и соавт. [36] выявили ядерную иммуноэкспрессию PTTG в 89% различных гормонально-активных аденом гипофиза, которая была статистически достоверно выше в рецидивирующих опухолях и коррелировала с индексом метки Ki-67. Точка разделения для экспрессии PTTG в рецидивирующих и нерецидивирующих аденомах составила 3,3% (60% чувствительность и 76% специфичность). Достоверная корреляция между иммуноэкспрессией PTTG и размером опухолей, радиологической картиной, возрастом, полом пациентов или лечением не обнаружена.

В ряде работ [30, 34, 37] исследовали связь между экспрессией PTTG и типом аденом гипофиза. При изучении 40 аденом гипофиза (12 соматотропином, 5 пролактином, 5 кортикотропином и 18 гормонально-неактивных) значительное повышение экспрессии микроРНК PTTG обнаружено в соматотропиномах по сравнению с пролактиномами и кортикотропиномами. Предполагается, что различный уровень экспрессии PTTG зависит от различных молекулярных механизмов, запускающих инициацию и/или опухолевую прогрессию, обусловленные PTTG.

В исследованиях *in vitro* показана связь между экспрессией PTTG и ростовых факторов фибробластов. Гиперэкспрессия указанных маркеров была обнаружена именно в инвазивных аденомах гипофиза [38].

C. McCabe и соавт. [39, 40] на 111 аденомах гипофиза различного типа показали статистически значимую положительную корреляцию между PTTG и микроРНК VEGF. T. Minematsu и соавт. [41, 48] обнаружили связь между сосудистой плотностью (определяемой при помощи иммуноэкспрессии CD34) и PTTG в соматотропиномах. Исходя из этих данных, авторы сделали выводы, что PTTG участвует в ангиогенезе опухолей гипофиза через активацию VEGF. Интересные данные сообщают E. Hunter и соавт. [37]: была обнаружена корреляция между экспрессией VEGF и S100, которая является маркером сустентоцитов (предполагаемый источник секреции VEGF).

В исследовании A. Heaney и соавт. [42] на четырех аденомах гипофиза выявлено снижение экспрессии PTTG, которое ассоциировалось со снижением пролиферативной активности (PCNA) и Bcl-2.

Таким образом, гипофизарный опухольтрансформирующий ген является интегративным маркером наиболее важных процессов онкогенеза в опухолях гипофиза.

В опухолях, происходящих из различных органов (молочная железа, яичники, мочевой пузырь, щитовидная железа, гипофиз), описаны хромосомные нарушения, связанные с потерей 11q региона 13 хромосомы, которые ассоциировались с опухолевой прогрессией и распространением метастазов. Аллельные делеции 11q13, 13q12—14,10q и 1p были обнаружены в инвазивных аденомах гипофиза. Такая информация получена больше в отношении пролактином и соматотропином в отличие от кортикотропином. Недостаточное количество данных о хромосомных нарушениях в кортикотропиномах требует их дальнейшего исследования в этом направлении [43—45].

Перспективными в отношении прогностических факторов биологического поведения кортикотропином являются исследования микроРНК. МикроРНК — это эндогенные некодируемые РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. МикроРНК могут действовать как супрессоры опухолевых генов или как проонкогены. Эти белки можно определить при помощи количественной ПЦР в реальном времени и микрочиповых методов.

В различных работах была обнаружена как гиперэкспрессия, так и гипоэкспрессия микроРНК в АКТГ-секретирующих аденомах гипофиза. В кортикотропиномах описана сниженная экспрессия miR-145, miR-21, miR-141, которая ассоциировалась именно с неблагопри-

ятным прогнозом [43]. В соматотропиномах и пролактиномах сниженная экспрессия miR-15a и miR-16-1 коррелировала с размером опухолей в отличие от кортикотропином [46]. F. Amaral и соавт. [43] обнаружили гипоэкспрессию miR-145, miR-21, miR-141, let-7a в кортикотропиномах по сравнению с нормальным гипофизом и не выявили связи между размером указанных аденом и результатами нейрохирургического лечения. Исключением являлась miR-141 со сниженной экспрессией, которая ассоциировалась с развитием ремиссии БИК после аденомэктомии. В литературе описана гиперэкспрессия ряда микроРНК: 122, 10b, 208a/b, 592, которая может быть ассоциирована с опухолевой прогрессией кортикотропином [24, 47].

Одним из самых современных методов для изучения различных заболеваний у человека, в том числе и опухолей гипофиза, является протеомика и транскриптомика. Эти методы основаны на определении обширного профиля белков в различных средах (кровь, ткани и др.) при помощи электрофореза в геле, масс-спектрометрии (для протеомики) и микрочиповых исследованиях (для транскриптомики). Протеомика и транскриптомика позволяют обнаружить большое количество белковых соединений, которые будут способствовать глубокому пониманию онкогенеза различных видов аденом гипофиза на молекулярном уровне. Эти данные можно будет использовать в качестве маркеров биологического поведения аденом гипофиза [24].

Таким образом, на сегодняшний день накоплены знания в отношении клинической картины, гистологического строения и иммунофенотипа, необходимые для оценки биологического поведения АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза. Однако до сих пор не изучено истинное соотношение типичных и атипичных кортикотропином, отсутствуют результаты долгосрочных исследований в отношении исхода после нейрохирургического лечения кортикотропином в зависимости от диагностических категорий указанных опухолей (типичных и атипичных аденом). В то же время изучается наличие связи между гистологическим строением кортикотропином, их иммунофенотипом и исходом после аденомэктомии. Данные исследований многочисленных международных научных коллективов показали, что функциональная активность со стороны опухолевых клеток (пролиферативные и антипролиферативные процессы), стромального компонента и ангиогенеза имеют определенное значение для понимания биологического поведения кортикотропином. Однако эти данные разрозненны, и к тому же отсутствует комплексное понимание указанных процессов. В связи с этим во всем мире активно изучаются молекулярно-генетические аспекты онкогенеза кортикотропином, что в дальнейшем, вероятно, позволит выделить надежные предикторы неблагоприятного прогноза кортикотропином в частности, и аденом гипофиза в целом.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вакс В.В. *Клиническая нейроэндокринология*. Под ред. акад. РАН и РАМН Дедова И.И. М.: УП-ПРИНТ 2011;7-27.
2. Monson JP. The epidemiology of endocrine tumors. *Endocrine Related Cancer*. 2000;7:29-36.
   doi: 10.1677/erc.0.0070029.
3. Марова Е.И. *Клиническая нейроэндокринология*. М.: УП-ПРИНТ 2011;51-78.
4. Воронцов А.В. *Клиническая нейроэндокринология*. М.: УП-ПРИНТ. 2011;39-50.
5. Trouillas JRP, Roy P, Sturm N, Dantony E, Cortet-Rudelli C, Viennet G, Bonneville JF, Assaker R, Auger C, Brue T. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case—control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathologica*. 2013;126:123-135.
   doi: 10.1007/s00401-013-1084-y.
6. Raverot G, Jouanneau E, Trouillas J. Clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *European Journal of Endocrinology*. 2014;170:R121-R132.
   doi: 10.1530/EJE-13-1031.
7. Saeger W, Lü DK, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe H-J, Petersenn S. Pathohistological classification of pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tumor Registry. *European Journal of Endocrinology*. 2007;156:203-216.
   doi: 10.1530/eje.1.02326.
8. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. (eds). World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. *IARC Press*. Lyon. 2004;27.
9. Asa SL. Tumors of the Pituitary Gland. Fascicle 15, 4th Series. The Atlas of Tumor Pathology. *Armed Forces Institute of Pathology*. 2011;340-350. Washington DC.
10. Mete O, Asa SL. Clinicopathological Correlations in Pituitary Adenomas. *Brain Pathology*. 2012;22:443-453.
    doi:10.111/j.1750-3639.2012.00599.x.
11. George DH, Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Young WFJr, Lloyd RV, Meyer FB. Crooke's cell adenoma of the pituitary: an aggressive variant of corticotroph adenoma. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:1330-1336.
12. Horvath E, Kovacs K, Smyth HS, Cusimano M, Singer W. Silent adenoma subtype 3 of the pituitary-immunohistochemical and ultrastructural classification: a review of 29 cases. *Ultrastruct Pathol*. 2005;29:511-524.
13. Al-Brahim NY, Asa SL. My approach to pathology of the pituitary gland. *J Clin Pathol*. 2006;59:1245-1253.
14. Asa SL. Practical pituitary pathology: what does the pathologist need to know? *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:1231-1240.
15. Zada G, Woodmansee WW, Ramkissoon Sh, Amadio J, Nose V, Laws REJr. Atypical pituitary adenomas: incidence, clinical characteristics, and implications. *J Neurosurg*. 2011;114:336-344.
    doi: 10.3171/2010.8.JNS10290.
16. Rindi G, Kloppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Erikssson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, et al. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Archiv*. 2006;449:395-401.
    doi: 10.1007/s00428-006-0250-1.
17. Raverot G, Wierinckx A, Jouanneau E, Auger C, Borson-Chazot F, Lachuer J, Pugeat M, Trouillas J. Clinical, hormonal and molecular characterization of pituitary ACTH adenomas without (silent corticotroph adenomas) and with Cushing's disease. *European Journal of Endocrinology*. 2010;163:35-43.
    doi: 10.1210/jc.2009-1191.
18. Dudziak K, Honegger J, Bornemann A, Horger M, Mussig K. Pituitary carcinoma with malignant growth from first presentation and fulminant clinical course — case report and review of the literature. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011;96:2665-2669.
    doi: 10.1210/jc.2011-1166.
19. Heaney AP. Pituitary Carcinoma: Difficult Diagnosis and Treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(12):3649-3660.
    doi: 10.1210/jc.2011-2031.
20. Ozgur M, Ezzat Sh, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2012;49:69-78.
    doi: 10.1530/JME-12-0113.
21. Gong J, Zhao Y, Abdel-Fattah R, Amos S, Xiao A, Lopes MB, Hussaini IM, Laws ER. Matrix metalloproteinase-9, a potential biological marker in invasive pituitary adenomas. *Pituitary*. 2008;11:37-48.
    doi: 10.1007/s11102-007-0066-2.

22. Hussaini IM, Trotter C, Zhao Y, Abdel-Fattah R, Amos S, Xiao A, Agi CU, Redpath GT, Fang Z, Leung GK, et al. Matrix metalloproteinase-9 is differentially expressed in nonfunctioning invasive and noninvasive pituitary adenomas and increases invasion in human pituitary adenoma cell line. *American Journal of Pathology*. 2007;170:356-365.

doi: 10.2353/ajpath.2007.060736.

23. Liu W, Matsumoto Y, Okada M, Miyake K, Kunishio K, Kawai N, Tamiya T, Nagao S. Matrix metalloproteinase 2 and 9 expression correlated with cavernous sinus invasion of pituitary adenomas. *Journal of Medical Investigation*. 2005;52:151-158.

doi: 10.2152/jmi.52.151.

24. Tanase CP, Ogrezeanu I, Badiu C. Apoptosis (chapter 5), MicroRNAs (chapter 8), New Generic Tools for Diagnosis: Genomics and Proteomics (chapter 9) in Molecular Pathology of Pituitary Adenomas. Elsevier, London 2012;45-52, 92-96, 98-106.

25. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*. 2007;26(9):1324-1337.

doi:10.1038/sj.onc.1210220.

26. Han L, Wu C, Riaz H, et al. Characterization of the mechanism of inhibin α-subunit gene in mouse anterior pituitary cells by RNA interference. *PLoS One*. 2013;8(10):e74596.

doi:10.1371/journal.pone.0074596.

27. Nagy Z, Gatter KC, Esiri MM, Wass JA, Harris AL. Proliferation, bcl-2 expression and angiogenesis in pituitary adenomas: relationship to tumour behaviour. *Br J Cancer*. 2000;82(8):1441-1445.

doi:10.1054/bjoc.1999.1074.

28. Tanase C, Albulescu R, Codrici E, Calenic B, Popescu ID, Mihai S, Necula L, Cruceru ML, Hinescu ME. Decreased expression of APAF-1 and increased expression of cathepsin B in invasive pituitary adenoma. *OncoTargets and Therapy*. 2015;8:81-90.

doi: http://dx.doi.org/10.2147/OTT.S70886.

29. Jankowska A, Wasko R, Waligorska-Stachura J, et al. Survivin products in pituitary tumors. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008;29(6):1033-1037.

30. Zhang YC, Gao J, Xin T, Zheng ZM, Teng LZ. Expression of survivin in invasive pituitary adenoma. *Saudi Med J*. 2008;29(11):1589-1592.

31. Salehi F, Kalman K, Scheithauer BW, Lloyd RV, Cusimano M. Pituitary tumor-transforming gene in endocrine and other neoplasms: a review and update. *Endocrine Related Cancer*. 2008;15:721-743.

doi: 10.1677/ERC-08-0012.

32. Saez C, Japon MA, Ramos-Morales F, Romero F, Segura DI, Tortolero M, Pintor-Toro JA. PTTG is overexpressed in pituitary adenomas and other primary epithelial neoplasias. *Oncogene*. 1999;18:5473-5476.

33. Zhang X, Horwitz GA, Heaney AP, Nakashima M, Prezant TR, Bronstein MD, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999a;84:761-767.

34. Zhang X, Horwitz GA, Prezant TR,Valentini A, Nakashima M, Bronstein MD, Melmed S. Structure, expression, and function of human pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Molecular Endocrinology*. 1999b;13:156-166.

35. Wierinckx A, Auger C, Devauchelle P, Reynaud A, Chevallier P, Jan M, Perrin G, Fevre-Montange M, Rey C, Figarella-Branger D, et al. A diagnostic marker set for invasion, proliferation, and aggressiveness of prolactin pituitary tumors. *Endocrine Related Cancer*. 2007;14:887-900.

doi:10.1677/ERC-07-0062.

36. Filippella M, Galland F, Kujas M, Young J, Faggiano A, Lombardi G, Colao A, Meduri G, Chanson P. Pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression correlates with the proliferative activity and recurrence status of pituitary adenomas: a clinical and immunohistochemical study. *Clinical Endocrinology*. 2006;65:536-543.

doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02630.x.

37. Hunter JA, Skelly RH, Aylwin SJ, Geddes JF, Evanson J, Besser GM, Monson JP, Burrin JM. The relationship between pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression and in vitro hormone and vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from human pituitary adenomas. *European Journal of Endocrinology*. 2003;148:203-211.

doi: 10.1530/eje.0.1480203.

38. Han L, Wu C, Riaz H, et al. Characterization of the mechanism of inhibin α-subunit gene in mouse anterior pituitary cells by RNA interference. *PLoS One*. 2013;8(10):e74596.

39. McCabe CJ, Boelaert K, Tannahill LA, Heaney AP, Stratford AL, Khaira JS, Hussain S, Sheppard MC, Franklyn JA, Gittoes NJ. Vascular endothelial growth factor, its receptor KDR/Flk-1, and pituitary tumor transforming gene in pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2002;87:4238-4244.

doi: http://dx.doi.org/10.1210/jc.2002-020309.

40. McCabe CJ, Khaira JS, Boelaert K, Heaney AP, Tannahill LA, Hussain S, Mitchell R, Olliff J, Sheppard MC, Franklyn JA, et al. Expression of pituitary tumour transforming gene (PTTG) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in human pituitary adenomas: relationships to clinical tumour behaviour. *Clinical Endocrinology*. 2003;58:141-150.

doi: 10.1046/j.1365-2265.2003.01598.x.

41. Minematsu T, Suzuki M, Sanno N, Takekoshi S, Teramoto A, Osamura RY. PTTG overexpression is correlated with angiogenesis in human pituitary adenomas. *Endocrine Pathology*. 2006;17:143-153.

42. Heaney AP, Fernando M, Melmed S. Functional role of estrogen in pituitary tumor pathogenesis. *Journal of Clinical Investigation*. 2002;109:277-283.

doi: 10.1172/JCI14264.

43. Amaral FC, Torres N, Saggioro F, Neder L, Machado HR, Silva WAJr, Moreira AC, Castro M. MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009;94:320-323.

doi: http://dx.doi.org/10.1210/jc.2008-1451.

44. Tahir A, Chahal HS, Korbonits M. Molecular genetics of the AIP gene in familial pituitary tumorigenesis. *Progress in Brain Research*. 2010;182:229-253.

doi: 10.1016/S0079-6123(10)82010-2.

45. Wierinckx A, Roche M, Raverot G, Legras-Lachuer C, Croze S, Nazaret N, Rey C, Auger C, Jouanneau E, Chanson P, et al. Integrated genomic profiling identifies loss of chromosome 11p impacting transcriptomic activity in aggressive pituitary PRL tumors. *Brain Pathology*. 2011;21:533-543.

doi: 10.1111/j.1750-3639.2011.00476.x.

46. Bottoni A, Piccin D, Tagliati F, Luchin A, Zatelli MC, Degli Uberti. EC miR-15a and miR-16-1 down-regulation in pituitary adenomas. *Journal of Cellular Physiology*. 2004;204:280-285.

doi: 10.1002/jcp.20282.

47. Stilling G, Sun Z, Zhang S, Jin L, Righi A, Kovācs G, Korbonits M, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV. MicroRNA expression in ACTH-producing pituitary tumors: up-regulation of microRNA-122 and -493 in pituitary carcinomas. *Endocrine*. 2010;38(1):67-75.

doi: 10.1007/s12020-010-9246-0.

48. Minematsu T, Egashira N, Kajiya H, Takei M, Takekoshi S, Itoh Y, Tsukamoto H, Itoh J, Sanno N, Teramoto A, et al. PTTG is a secretory protein in human pituitary adenomas and in mouse pituitary tumor cell lines. *Endocrine Pathology*. 2007;18:8-15.

doi: 10.1007/s12022-007-0005-9.

49. Zhu X, Asa SL, Ezzat S. Fibroblast growth factor 2 and estrogen control the balance of histone 3 modifications targeting MAGE-A3 in pituitary neoplasia. *Clinical Cancer Research*. 2008;14:1984-1996.

Комментарий

Оценка биологического поведения аденом гипофиза, в том числе кортикотропином, крайне важна для выяснения причин патогенеза и прогрессии опухолей гипофиза, а также разработки эффективных методов диагностики и лечения этой сложной и многообразной группы опухолей.

До недавнего времени аденомы гипофиза подразделялись на ацидофильные, базофильные, хромофобные и смешанные; однако эта классификация не представляла большой значимости в диагностике опухолей, так как не было достаточной корреляции с клинической картиной заболевания.

В 1995 г. E. Horvath и K. Kovacs предложили модифицированную классификацию с учетом морфологических, ультраструктурных и иммуногистохимических особенностей различных видов аденом. Согласно этой классификации, были выделены соматотрофная, лактотрофная, маммосоматотрофная, кортикотрофная, тиреотрофная, гонадотрофная, плюригормональная, «немая» и другие виды аденом.

Последняя морфологическая классификация опухолей гипофиза была пересмотрена ВОЗ более 10 лет назад (в 2004 г.).

Однако в последние годы опубликовано большое количество исследований аденом гипофиза, в том числе АКТГ-секретирующих, с использованием современных морфологических методик.

Авторы проанализировали большое количество современной литературы по морфологии и молекулярной биологии аденом гипофиза.

Вызывает большой интерес, что статья написана одним из пионеров изучения болезни Иценко—Кушинга в нашей стране, проф. Е.И. Маровой и канд. мед. наук А.М. Лапшиной, являющейся экспертом в современной морфологической диагностике аденом гипофиза, что позволило комплексно оценить данные лабораторных и инструментальных методов исследований в совокупности с клинической картиной заболевания.

В обзоре приводится интересная оценка гистологических и иммуногистохимических аспектов АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза в сравнении с другими морфологическими типами аденом гипофиза. Представлены морфологические классификации аденом гипофиза, критерии аденокарциномы гипофиза. Показаны возможности гистологических, иммуногистохимических методов диагностики аденом гипофиза, широко используемые в настоящее время, а также перспективы эпигенетических исследований с изучением экспрессии микроРНК, протеомики и транскриптомики.

Представлены наиболее известные на сегодня биомаркеры, имеющие значение в патогенезе аденом гипофиза, в частности кортикотропином. Статья будет крайне полезна для нейрохирургов, эндокринологов и морфологов, занимающихся проблемой аденом гипофиза. Представленные в работе данные могут быть положены в основу планирования проспективных исследований с изучением морфологических особенностей опухолей гипофиза с последующим проведением катамнестического исследования и выявления факторов, имеющих наиболее важное значение в патогенезе, биологическом поведении опухолей, в том числе прогнозировании рецидивов.

Л.И. Астафьева (Москва)