Pretkazatelji kliničkoga ponašanja adenoma hipofize

Solak, Mirsala

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:082608

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Mirsala Solak

Pretkazatelji kliničkoga ponašanja adenoma hipofize

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Mirsala Solak

Pretkazatelji kliničkoga ponašanja adenoma hipofize

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Rad je izrađen u Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutrašnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb

Voditelj istraživanja: doc.dr.sc. Tina Dušek

Zahvaljujem se trima ženama koje su mi, svaka na svoj način, pomogle i bile mentorice, doc.dr.sc. Tini Dušek u doktoratu, dr.sc. Ivani Kraljević u medicini i mojoj sestri u životu.

Zahvaljujem se dr.sc. Antoniji Jakovčević i doc.dr.sc. Davidu Ozretiću na nesebičnoj pomoći oko patohistološke i radiološke obrade uzoraka i podataka.

I na kraju, zahvaljujem se svim članovima Zavoda za endokrinologiju KBC Zagreb, koji su mi pomogli u izradi ovog rada.

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA 1
1.1. HIPOFIZA 1
1.1.1. Građa i funkcija hipofize 1
1.2. ADENOMI HIPOFIZE 2
1.2.1. Uvod 3
1.2.2. Epidemiologija adenoma hipofize 3
1.2.3. Etiologija adenoma hipofize 4
1.2.4. Podjela adenoma hipofize 5
1.3. Kliničke karakteristike bolesnika s adenomima hipofize 5
1.4. Nefunkcionalni adenomi hipofize 6
1.5. Funkcionalni adenomi hipofize 6
1.5.1. Prolaktinom 6
1.5.2. Akromegalija 8
1.5.3. Cushingova bolest 9
1.6. Neuroradiološke karakteristike adenoma hipofize 10
1.6.1. Neuroradiološka klasifikacija adenoma hipofize 11
1.6.2. Neuroradiološko praćenje rasta adenoma hipofize 12
1.7. Histološke karakteristike adenoma hipofize 13
1.7.1. Proliferacijski markeri adenoma hipofize 15
1.7.1.1. Ki-67 16
1.7.1.2. P53 16
1.8. Klasifikacija adenoma hipofize 17
1.8.1. Atipični adenomi 18
1.9. Liječenje i praćenje bolesnika s adenomima hipofize 19
1.10. Svrha rada 21
2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA 22
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 22
3.1. Glavni cilj 22
3.2. Sporedni ciljevi 22
4. ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA 23
4.1. Ispitanici 23
4.2. Uključni i isključni kriteriji 23
4.3. Plan istraživanja 23
4.4. Biokemijske metode 25
4.5. Kriteriji za dijagnozu pojedinih bolesti i poremećaja funkcije stanica prednjeg režnja hipofize 26
4.5.1. Evaluacija osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežne žlijezde 26
4.5.2. Evaluacija osi hipotalamus-hipofiza-štitnjača 27
4.5.3. Evaluacija osi hipotalamus-hipofiza-gonade 27
4.5.4. Cushingova bolest 27
4.5.5. Prolaktinom 27
4.5.6. Akromegalija 28
4.6. Imunohistokemijske metode 28
4.7. Statističke metode 28
5. REZULTATI 30

5.1. Prikaz općih značajki populacije..... 30
5.2. Prikaz rezultata liječenja i kliničkog tijeka..... 31
5.2.1. Prva linija liječenja..... 31
5.2.2. Ostale linije liječenja 32
5.3. Prikaz bolesnika prema funkciji adenohipofize (hipopituitarizam) 36
5.4. Prikaz bolesnika prema radiološkim i histološkim karakteristikama 37
5.5. Rezultati analize kliničkih, radioloških i histoloških karakteristika adenoma hipofize..... 39
5.6. Prognostička važnost kliničkih, radioloških i histoloških karakteristika adenoma hipofize..... 45
5.7. Prikaz bolesnika s atipičnim adenomom 53
6. RASPRAVA 55
6.1. Osvrt na klinički tijek i rezultate liječenja bolesnika s adenomima hipofize 55
6.2. Ekspresija proliferacijskih markera Ki-67, p53 i mitotska aktivnost u adenomima hipofize..... 57
6.2.1. Ekspresija proliferacijskih markera i invazivnost adenoma hipofize 59
6.3. Kliničko ponašanje adenoma hipofize s obzirom na postoperativni status…….60
6.4. Atipični adenom..... 62
7. ZAKLJUČCI 64
8. SAŽETAK 65
9. SUMMARY 67
10. LITERATURA 69
11. ŽIVOTOPIS …….....80

OPIS OZNAKA I KRATICA

ACTH	kortikotropni hormon
ADH	antidiuretski hormon
AL	prednji režanj hipofize (engl. *anterior lobe*)
ATG	engl. *autogel*
CRH	engl. *corticotrophin-releasing hormone*
CB	Cushingova bolest
DA	dopaminski agonist
DAB	diaminobenzidin
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
ECLIA	elektrokemiluminescencija (prema engl. *electrochemiluminiscence immunoassay*)
ELIZA	imunoenzimski test (prema engl. e*nzyme-linked immunosorbent assay*)
ESE	engl. *European Society of Endocrinology*
ER	estrogenski receptor
FSH	folikul stimulirajući hormon
fT4	slobodni tiroksin
G1	G1 faza staničnog ciklusa (prema engl. *gap*)
G2	G2 faza staničnog ciklusa (prema engl. *gap*)
GATA-2	GATA vežući protein-2
GH	engl. *growth hormone*
HE	Hemalaun-Eozin
HPF	engl. *high power fields*
HR	hormon rasta
ICD	engl. *international statistical classification of diseases*
IGF-1	čimbenik rasta sličan inzulinu-1 (prema engl. *insulin like growth factor-I*)
IJ	internacionalna jedinica
ITT	test inzulinske hipoglikemije
Ki-67	Ki-67 antigen
LAR	engl. *long acting repeatable*

LH	luteinizirajući hormon
M	mitoza
MEN1	engl. *multiple endocrine neoplasia 1*
MGMT	06-metilgvanin-DNA metil transferaza
MIB-1	engl. *mindbomb homolog-1*
MR	magnetska rezonanca
CT	kompjutorizirana tomografija
OGTT	oralni test opterećenja glukozom
P53	tumor supresorski protein p53
Pit-1	transkripcijski faktor hipofize-1
POMC	pro-opiomelanokortin
PL	stražnji režanj hipofize (engl. *posterior lobe*)
PRL	prolaktin
S	sinteza
SF-1	steroidnogenični faktor 1
SSTR2	somatostatinski receptor 2
SSTR5	somatostatinski receptor 5
SZO	Svjetska Zdravstvena Organizacija
T	transverzalni prerez hipofize
T1	T1 mjerena slika
t1	vrijeme na početku mjerenja veličine adenoma
T2	T2 mjerena slika
t2	vrijeme na kraju mjerenja veličine adenoma
TEF	tireotropni embrijski faktor
T-pit	transkripcijski faktor specifičan za hipofizu
TSH	tireotropin
TVDT	vrijeme do podvostručenja tumora (engl*. tumor volume doubling time*)
V1	volumen adenoma na početku mjerenja
V2	volumen adenoma na kraju mjerenja
WHO	engl. *World Health Organization*

1. UVOD I SVRHA RADA

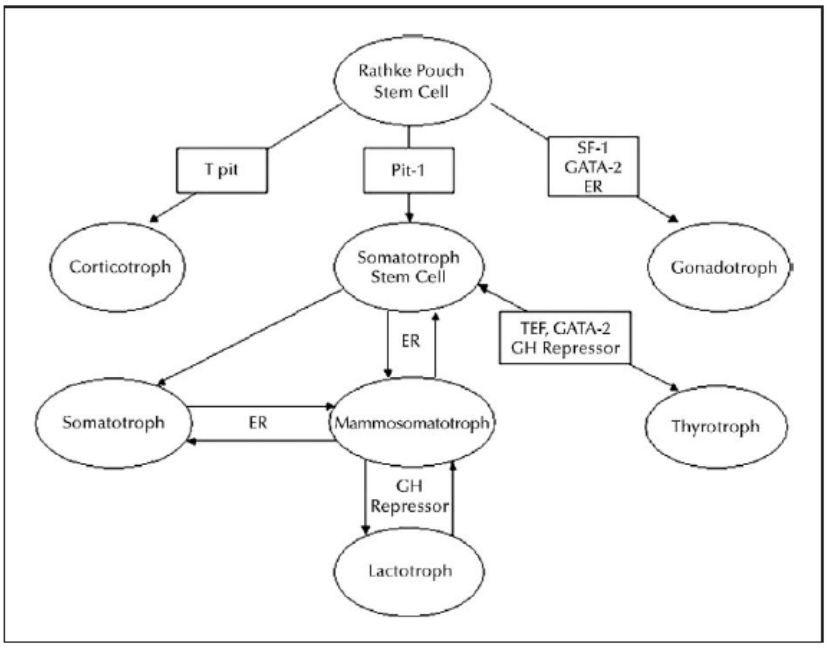
1.1. HIPOFIZA

1.1.1. Građa i funkcija hipofize

Hipofiza je žlijezda smještena na bazi lubanje u području sfenoidnog sinusa koji se naziva tursko sedlo (engl. *sella turcica*). Sastoji se od prednjeg režnja - adenohipofize, stražnjeg režnja - neurohipofize i intermedijarnog režnja, a okružena je durom. Krov koji dura formira s klinoidnim procesusima se naziva dijafragma sele. Ona sprječava prodor likvora u tursko sedlo. Držak hipofize i pripadajuće krvne žile prolaze kroz otvor u dijafragmi. Laterano od hipofize nalaze se kavernozni sinusi koji su odvojeni durom. Optička hijazma je udaljena od hipofize 5-10 mm.

Hipofiza s hipotalamusom čini jedinstvenu cjelinu koja kontrolira rad drugih žlijezda s unutarnjim izlučivanjem: štitnjače, nadbubrežnih žlijezdi i gonada (1). U adenohipofizi se nalazi pet linija stanica koje luče pojedine hormone: somatotropne (luče hormon rasta, HR), laktotropne (luče prolaktin, PRL), tireotropne (luče tireotropin, TSH), kortikotropne (luče kortikotropin, ACTH) i gonadotropne (luče luteinizirajući hormon, LH i folikul stimulirajući hormon, FSH). Ove stanice nastaju iz zajedničke primordijalne stanice. Pod kontrolom kompleksnih transkripcijskih faktora (T-pit, Pit-1, SF-1 i GATA-2) se diferenciraju tri linije stanica: kortikotropne, somatotropne zametne stanice i gonadotropne stanice (Slika 1) (2). Iz somatotropnih zametnih stanica se diferenciraju u zasebne linije: somatotropne, mamosomatotropne i tireotropne stanice. Intermedijarni režanj je u kontaktu s adenohipofizom, slabije je razvijen, te sintetizira i luči pro-opiomelanokortin (POMC) i kortikotropin (ACTH). Stražnji režanj hipofize, neurohipofiza, je distalni kraj aksona hipotalamičkih neurona. Njena funkcija je pohranjivanje sekretornih granula i sekrecija antidiuretskog hormona (ADH) i oksitocina.

Slika 1. Prikaz diferencijacije staničnih linija adenohipofize (preuzeto iz Asa SL) (2)



Legenda: T-pit=transkripcijski faktor specifičan za hipofizu, Pit-1=transkripcijski faktor hipofize-1, SF-1=steroidnogenični faktor 1, GATA-2=GATA vežući protein-2, ER=estrogenski receptor, TEF=tireotropni embrijski faktor, GH=hormon rasta (engl. *growth hormone*)

1.2. ADENOMI HIPOFIZE

1.2.1. Uvod

Adenomi hipofize su monoklonalni tumori koji nastaju od stanica adenohipofize i predstavljaju najčešće tumore selarne regije. Ranije se smatralo da se radi o rijetkim tumorima, no nedavna istraživanja su pokazala da učestalost iznosi čak 1/1000 svjetske populacije (3, 4). Posljedično ubrzanom napretku novih radioloških dijagnostičkih metoda i sve češćoj upotrebi magnetske rezonance (MR) u svakodnevnoj praksi, adenomi hipofize su postali čest klinički problem. Specifični su po tome što upravo endokrinološki znakovi hipersekrecije hormona te njihovi negativni učinci na organe predstavljaju velik klinički i terapijski izazov, osobito s obzirom na razvoj novih terapijskih mogućnosti. Godinama je prevladavao stav da su adenomi hipofize isključivo dobroćudni tumori, zbog čega se i nazivaju adenomima, no noviji dokazi ukazuju da ovakav stav treba reviziju (5, 6), jer unatoč njihovoj, patohistološki gledano, dobroćudnoj prirodi, s kliničkog stajališta mogu značajno varirati u pogledu

agresivnosti (7). Veliki broj ovih tumora su dobro ograničeni dobroćudni adenomi koji se mogu uspješno kirurški odstraniti, no određeni broj ima sklonost agresivnom i lokalno invazivnom rastu te učestalim recidivima bolesti unatoč maksimalnom kirurškom, medikamentnom i radioterapijskom liječenju. Zbog navedenog izraz adenom ne opisuje sasvim adekvatno ove agresivne tumore hipofize, a kao karcinom se definiraju tek kada su nađene metastaze. U većini slučajeva invazivni adenomi hipofize nisu upisani u registre za rak te su ovim bolesnicima uskraćene određene vrste lijekova koje su odobrene za „klasične karcinome“. Stoga, eminentni stručnjaci iz ovog područja predlažu reviziju nomenklature (8).

1.2.2. Epidemiologija adenoma hipofize

Teško je precizno odrediti prevalenciju adenoma hipofize u općoj populaciji budući da se u značajnom broju slučajeva radi o malim, asimptomatskim promjenama. Procjene na temelju registara raka pokazuju da su adenomi hipofize rijetki u usporedbi sa solidnim tumorima kao što su tumori dojke, pluća ili debelog crijeva (9), no njihova prevalencija u općoj populaciji je velika. Postojeći podaci su nekonzistentni, ovisno tome jesu li dobiveni na temelju analiza uzorka tkiva na obdukciji ili radioloških serija provedenih na bolesnicima analiziranim specifično zbog bolesti hipofize ili zbog nekog drugog razloga (10). Epidemiološke studije su najmanje precizne budući da ovise o registrima pojedinih populacija, na koje značajno utječu regionalni faktori, ali i jer u njih najčešće nisu uključeni incidentalomi i „*silent*“ adenomi. U obdukcijskim serijama incidencija adenoma hipofize varira od 3,2-27% (10, 11, 12), dok je incidencija u radiološkim studijama 22,5% (10). U kirurškim serijama predstavljaju oko 10% reseciranih intrakranijskih neoplazmi (13). Navedeni podaci ukazuju da se radi o čestim tumorima u općoj populaciji.

Učestalost adenoma hipofize, općenito gledano, raste s dobi. Jedna teorija je da niže vrijednosti perifernih hormona u starijoj dobi uzrokuju kompenzatorno pojačano lučenje gonadotropnih stanica hipofize i tako stimuliraju početak tumorigeneze (14). Kod žena su češći u mlađoj dobi, najčešće između 20. i 39. godine života, a kod muškaraca u 6. desetljeću (15, 16). Razlog ranijem otkrivanju adenoma kod žena su poremećaji menstruacijskog ciklusa, dok se kod muškaraca često bolest dijagnosticira kada je adenom značajno veći i uzrokuje smetnje vida. Učestalost različitih tipova adenoma hipofize varira ovisno o dobi: u djetinjstvu su najčešći kortikotropinomi,

tijekom 2., 3. i 4. desetljeća prolaktinomi, dok su nakon 40-ih godina života najčešći nefunkcionalni adenomi (17).

Dosadašnja istraživanja pokazuju da su adenomi hipofize češći u crnoj rasi (15, 18). Nema dovoljno dokaza koji bi ukazali na prehranu ili okoliš kao uzrok različite pojave adenoma, no pretpostavlja se da bi mogla biti posljedica genetskih faktora, različite kliničke prezentacije ili je možda i slučajan nalaz.

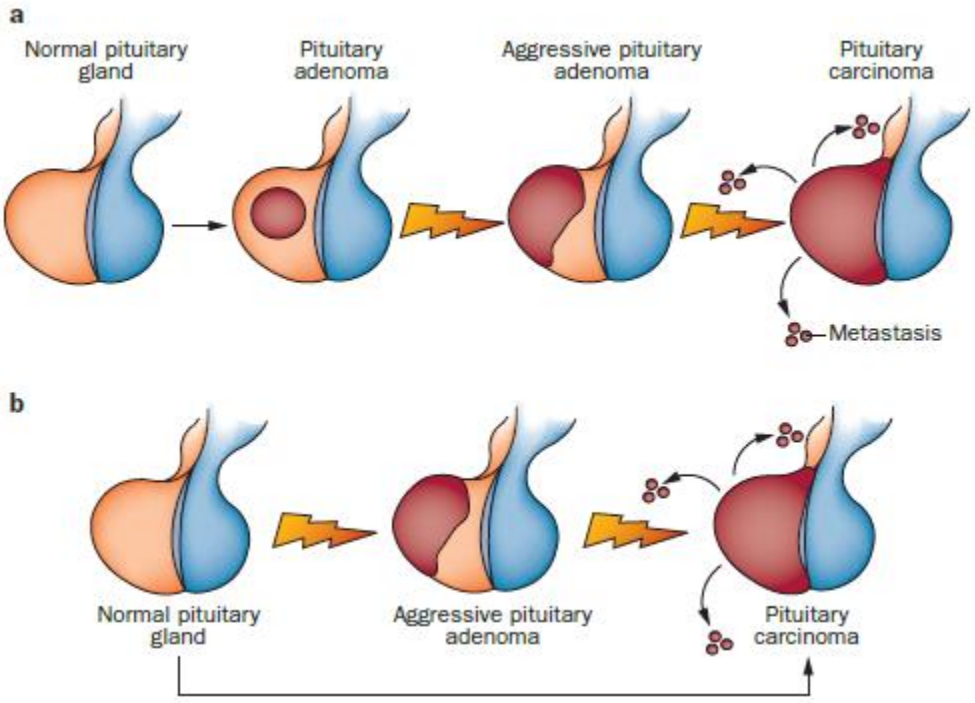
Nedvojbeno je da funkcionalni adenomi hipofize, prije svega akromegalija i Cushingova bolest, povećavaju mortalitet i morbiditet bolesnika, no nedavna istraživanja pokazuju povećan mortalitet i kod bolesnika s nefunkcionalnim adenomima, prije svega kod mlađih žena povezano s hipopituitarizmom te posljedično neprimjerenoj supstitucijskoj terapiji (19, 20).

1.2.3. Etiologija adenoma hipofize

Etiologija adenoma hipofize nije sasvim razjašnjena. Poznato je da su ovo monoklonalni tumori, no ne zna se nastaju li ekspanzijom jedne prekursorske stanice hipofize koja ima jedinstvene proliferativne sposobnosti ili diferencirane stanice koja već posjeduje sposobnost ekspresije hormona (21, 22). Istraživanja o tumorigenezi adenoma hipofize su otežana zbog činjenice da je hipofiza teško dostupna za biopsiju, zbog nedostatka funkcionalnih, sekretornih staničnih linija hipofize te činjenice da postoji samo nekoliko potencijalnih životinjskih modela na kojima se mogu istraživati funkcionalni i nefunkcionalni adenomi hipofize.

Na Slici 2 su prikazana dva predložena modela tumorigeneze opisana u literaturi (6): a) model postepene tumorigeneze prema kojem od normalnih stanica hipofize nastaje adenom, koji postepeno postaje agresivan i konačno prelazi u karcinom i model b) prema kojem de novo iz stanica hipofize odmah nastaje agresivni adenom koji potencijalno ima predispoziciju za progresiju u karcinom. Novija istraživanja su pokazala da su važni genetski i epigenetski faktori, parakrini disruptori faktora rasta i promijenjeni mikro okoliš same hipofize. Oni dovode do aktivacije onkogena, inaktivacije tumor supresorskih gena ili disregulacije staničnog ciklusa. Sve zajedno pridonosi proliferaciji stanica, no za sada je potpuno nepoznat inicijalni faktor u tumorigenezi (23).

Slika 2. Predloženi modeli tumorigeneze (preuzeto iz Di Ieva i sur.) (6)



1.2.4. Podjela adenoma hipofize

Adenomi hipofize se klasificiraju prema veličini na mikroadenome (<1 cm) i makroadenome (≥1 cm), prema neuroradiološkim osobinama na invazivne i neinvazivne te prema funkcionalnom statusu na funkcionalne i nefunkcionalne. Veliki tumori (≥4 cm) se često posebno klasificiraju kao gigantski adenomi (engl. *giant adenomas*). Ranije su prema citološkim karakteristikama bili klasificirani na acidofilne, bazofilne i kromofobne, a danas se kao standard primjenjuje imunohistokemijska analiza na temelju koje se dijele na laktotropne, somatotropne, kortikotropne, gonadotropne i tireotropne. Molekularnom analizom se određuje ekspresija transkripcijskih faktora, faktora rasta i/ili ekspresija tumor supresorskih gena.

1.3. Kliničke karakteristike bolesnika s adenomima hipofize

Funkcionalni status adenoma hipofize se definira prema kliničkim simptomima i biokemijskim nalazima te se prema tome adenomi dijele na funkcionalne i nefunkcionalne. Funkcionalni adenomi hipofize proizvode prekomjerne količine

hormona koji uzrokuju pojavu specifičnih kliničkih sindroma u sklopu prolaktinoma, akromegalije i Cushingove bolesti. Nefunkcionalni adenomi se najčešće otkriju slučajno na MR učinjenoj iz nekog drugog razloga (stoga se nazivaju incidentalomi), na autopsiji ili zbog kompresivnih simptoma (glavobolja, smetnje vida, simptomi hipopituitarizma) (24). Dijabetes insipidus je vrlo rijetko prisutan kod bolesnika s adenomom hipofize i najčešće ukazuje na neku drugu patologiju, npr. metastaze u selarnoj regiji ili sistemsku upalnu bolest (25). Najčešći adenomi hipofize su prolaktinomi, oko 50% svih slučajeva. Nakon toga slijede nefunkcionalni adenomi, somatotropinomi, kortikotropinomi i tireotropinomi.

1.4. Nefunkcionalni adenomi hipofize

Nefunkcionalni adenomi hipofize su monoklonalni tumori koji najčešće luče folikul stimulirajući hormon (FSH) i/ili luteinizirajući hormon (LH). U ovu skupinu, također, spadaju adenomi koji ne luče niti jedan tropni hormon adenohipofize, tzv. *„null-cell“* adenomi ili onkocitomi. Također, u nefunkcionalne se ubrajaju adenomi koji nastaju iz diferenciranih stanica, ali ne luče prekomjerne količine hormona. Izdvajaju se „*silent*“ adenomi koji luče HR i ACTH, jer imaju agresivniji klinički tijek uz česte relapse, osobito „*silent*“ ACTH adenomi (26). Patofiziologija odsustva kliničkih simptoma kod ovih adenoma za sada nije poznata.

1.5. Funkcionalni adenomi hipofize

Funkcionalni adenomi hipofize su monoklonalni tumori koji luče specifične hormone koji su odraz stanice iz koje nastaju: prolaktinomi luče prolaktin (PRL), somatotropinomi luče hormon rasta (HR), kortikotropinomi luče kortikotropni hormon (ACTH), dok su najrjeđi tireotropinomi koji luče tireotropni hormon (TSH).

1.5.1. Prolaktinom

Prolaktinomi si najčešći tumori hipofize, čine 60% svih adenoma, a učestalost im varira ovisno o dobi i spolu (27). Najčešće se javljaju kod mladih žena u dobi od 20 do 50 godina. Odnos muškaraca i žena se kreće oko 10:1. U pedijatrijskoj i adolescentnoj populaciji su značajno rjeđi, prevalencija se kreće oko 100/milijun i čine

manje od 2% svih intrakranijskih tumora. Javljaju se kod oko 30% pacijenata s MEN1 te su u tom slučaju agresivniji od sporadičnih slučajeva (28).

Prolaktinomi imaju raznoliku kliničku prezentirajuaciju, neuroradiološki nalaz i biološko ponašanje. Kod žena reproduktivne dobi se najčešće radi o indolentnim mikroadenomima, koji se prezentiraju hiperprolaktinemijom i njenim učincima - galaktoreja, oligomenoreja i smanjen libido (29). Kod muškaraca i postmenopauzalnih žena se najčešće radi o makroadenomima koji se, osim simptoma hiperprolaktinemije, prezentiraju zbog posljedica ekstraselarnog širenja tumora, prije svega smetnjama vida i glavoboljom, ali nešto rjeđe i spontanom rinolikvorejom, ispadom funkcije kranijalnih živaca ili opstruktivnim hidrocefalusom (28).

Mehanizmi biološkog ponašanja prolaktinoma nisu sasvim poznati. Kod većina bolesnika mikroprolaktinomi ne rastu, stoga se često nalaze kao slučajan nalaz na autopsijama (30). Smatra se da su makroprolaktinomi zaseban entitet budući da samo 4-7% mikroprolaktinoma progredira u makroprolaktinom (31). Neki makroprolaktinomi pokazuju agresivno biološko ponašanje za koje, do sada, ne postoji objašnjenje te ne postoje niti kriteriji koji bi predvidjeli njihovo ponašanje (32). Oni prolaktinomi koji infiltriraju okolna tkiva i strukture se nazivaju invazivnim, a vrlo rijetko su metastatski (33).

Prva linija liječenja prolaktinoma su dopaminski agonisti (DA) uz koje se postiže dobra kontrola razine prolaktina, kliničkih simptoma i veličine tumora, uz dobru podnošljivost (34). Određeni broj bolesnika su rezistentni na DA, što se definira neuspjehom normalizacije vrijednosti prolaktina i/ili izostankom smanjenja veličine prolaktinoma za najmanje 50% uz maksimalne doze DA (bromokriptin 7,5 mg/dan ili kabergolin 2,0 mg/tjedan). Prema nekim podacima oko 25% bolesnika koji su na bromokriptinu te 10-15% bolesnika na kabergolinu ne uspijevaju normalizirati razinu prolaktina (32). Rezistencija na DA koja se očituje kao rezistencija na smanjenje veličine tumora je prisutna u oko 50% bolesnika na bromokriptinu i 10-15% na kabergolinu (35). Transsfenoidna operacija dolazi u obzir kao terapijska opcija kod posebnih skupina bolesnika kod kojih se ne postigne kontrola bolesti uz medikamentoznu terapiju. Operacijom se postiže normalizacija vrijednosti prolaktina kod 30-40% makroprolaktinoma i 65-85% mikroprolaktinoma uz relaps bolesti kod 20% bolesnika kroz 10 godina (36). Kod većine prolaktinoma ove metode liječenja su uspješne, dok kod bolesnika s invazivnim prolaktinomom dolazi u obzir i radioterapija (37).

1.5.2. Akromegalija

Akromegalija je skup kliničkih simptoma uzrokovanih prekomjernim lučenjem hormona rasta, u gotovo 95% slučajeva iz somatotropinoma. Najčešće se dijagnosticira između 50. i 65. godine života. Kod muškaraca je češća tijekom adolescencije te u 5. i 6. desetljeću života. Prekomjerno lučenje hormona rasta se u odrasloj dobi manifestira rastom kostiju lica, šaka i stopala te hipertrofijom vezivnog tkiva. Bolest ima negativne metaboličke posljedice te dovodi do nastanka šećerne bolesti, hipertenzije, osteoartritisa, sindroma karpalnog kanala, apneje i ubrzane koštanje pregradnje (38). Zbog sporog tijeka bolesti simptomi bolesti su prosječno prisutni 4-10 godina prije postavljanja dijagnoze (39).

Cilj liječenja je smanjiti komplikacije bolesti i mortalitet, što se postiže smanjenjem tumorske mase i normalizacijom koncentracije HR i čimbenika rasta sličnog inzulinu-1 (engl. *insulin like growth factor-I*) u krvi, koji je njegov medijator. Gotovo dvije trećine somatotropinoma su makroadenomi (40). Prvi izbor liječenja je neurokirurški zahvat kojim se postiže remisija u 80-90% bolesnika s mikroadenomom i 40-60% s makroadenomom (41, 42). Kod onih bolesnika kod kojih nije postignuta remisija bolesti farmakoterapija je druga linija liječenja. Ona dolazi u obzir i kod bolesnika kod kojih je neurokirurški zahvat iz nekog razloga kontraindiciran ili kod kojih postoji invazija kavernoznog sinusa koja onemogućava potpuno odstranjenje tumora.

U medikamentnom liječenju akromegalije se koriste analozi somatostatinskih receptora, agonisti dopaminskih receptora i antagonisti receptora za HR. Temelj liječenja su analozi somatostatinskih receptora (oktreotid LAR, engl. *Long Acting Repeatable* i lanreotid ATG, engl. *Autogel*) te u novije vrijeme pasireotid LAR. Njihovom upotrebom se u neselekcioniranih bolesnika postiže biokemijska kontrola bolesti u 20–30% slučajeva i smanjenje veličine tumora u 66-82% slučajeva (43). Pasireotid predstavlja terapijsku opciju za bolesnike s akromegalijom koji su rezistentni na stariju generaciju analoga somatostatina i koji imaju afinitet predominantno za somatostatinski receptor 2 (SSTR2). Bromergon, agonist dopamina koji se prvenstveno koristi u liječenju prolaktinoma, dovodi do biokemijske kontrole bolesti u 10% bolesnika, dok je kabergolin učinkovitiji te dovodi do normalizacije vrijednosti HR u 48%, a IGF-1 u 34% bolesnika (43). Pegvizomantom, pegiliranim analogom HR koji djeluje kao selektivni antagonist receptora za HR, se prema jednom globalnom, neintervencijskom istraživanju na velikom broju ispitanika, postigla normalna vrijednost

IGF-1 u 63% slučajeva (44). Istodobna primjena dva lijeka različitih mehanizama djelovanja predstavlja učinkovitu terapijsku opciju u slučaju kada se remisija bolesti ne može postići primjenom samo jednog lijeka.

1.5.3. Cushingova bolest

Cushingova bolest (CB) je teško kliničko stanje uzrokovano adenomom hipofize koji luči ACTH. Trajno povišena vrijednost ACTH dovodi do kronične prekomjerne proizvodnje kortizola iz nadbubrežnih žlijezdi što ima negativne metaboličke posljedice. CB dovodi do smanjenja kvalitete života, povećanog morbiditeta i mortaliteta, što je reverzibilno ako se postigne remisija bolesti. U najvećem broju slučajeva radi se o mikrokortikotropinomu.

Bolesnici se najčešće prezentiraju jednim ili više komorbiditeta (debljina, nekontrolirana hipertenzija, nekontrolirana šećerna bolest tip 2, osteoporoza, depresija) te karakterističnim kliničkim znakovima hiperkortizolizma (pojačano stvaranje modrica, ljubičaste strije, redistribucija masti centralno, *"buffalo hump", "moon face"*, pletorično lice, atrofija proksimalne muskulature). Kortikotropinomi su češći kod žena, osim u dječjoj dobi, osobito kod djece mlađe od 10 godina kada se češće javljaju kod dječaka.

Transsfenoidna operacija je prvi izbor liječenja kojom se postiže remisija bolesti kod 65-90% bolesnika s mikroadenomom te <65% s makroadenomom (45), međutim učestalost recidiva kod bolesnika koji su postigli ranu remisiju bolesti iznosi do 25% (46, 47). Druga linija liječenja je ponovni neurokirurški zahvat kojim se postižu manje stope izlječenja, prosječno u 50-60% slučajeva (48) te radioterapija čiji učinak može biti odgođen godinama. Medikamentna terapija je potrebna kada je kirurško liječenje kontraindicirano, neuspješno ili u razdoblju dok se ne postigne učinak radioterapije. U nekim centrima se medikamentna terapija primjenjuje rutinski i prije operativnog zahvata kao priprema bolesnika u svrhu smanjenja potencijalnih perioperativnih komplikacija.

Inhibitori steroidogeneze (ketokonazol, metirapon, mitotan i etomidat) su lijekovi koji se primjenjuju u liječenju CB. Njihovo djelovanje je usmjereno na nadbubrežnu žlijezdu, a cilj je smanjenje koncentracije kortizola u krvi tj. biokemijska kontrola bolesti. Dva su pristupa upotrebi ovih lijekova, jedan je potpuna inhibicija endogene sinteze kortizola i nadomještanje adrenalne funkcije, a drugim pristupom se teži postići

normalnu koncentraciju kortizola u krvi. Potencijalni rizik kod primjene ovih lijekova je nastanak hipokorticizma.

Osim inhibitora steroidogeneze, na raspolaganju su agonisti dopaminergičkih receptora i analozi somatostatinskih receptora koji inhibiraju lučenje ACTH iz kortikotropinoma, no njihova primjena je manje uspješna i raširena. Dugotrajan učinak bromokriptina je kratkoročan i sporadičan, dok učinak oktreotida u liječenju kortikotropinoma nije značajan. U novije vrijeme se upotrebljava pasireotid, lijek koji djeluje preko somatostatinskog receptora 5 (SSTR5) na kortikotropinomu. Prema jednoj velikoj multicentričnoj studiji faze III kliničkog ispitivanja, njime se postiže biokemijska remisija u 20% slučajeva (49). Konačno, mifepriston je antagonist glukokortikoidnog receptora, no njegov učinak u biokemijskoj kontroli bolesti je teško procijeniti budući da su za sada objavljeni samo prikazi slučajeva i manje serije bolesnika.

Kombinacija lijekova s različitim mehanizmima djelovanja je obećavajuća terapijska opcija budući da se na ovaj način može učinkovito smanjiti koncentracija kortizola u krvi. Nakon svih primijenjenih modaliteta liječenja remisija bolesti se postiže u 59-90% bolesnika, ovisno o centru i ovisno o tome radi li se o mikroadenomu ili makroadenomu (50, 51).

1.6. Neuroradiološke karakteristike adenoma hipofize

Magnetska rezonanca predstavlja zlatni standard u radiološkoj dijagnostici adenoma hipofize, dok CT ima komplementarnu ulogu u detaljnijoj analizi destrukcije kosti. U većini centara se koriste koronarne i transverzalne T1-mjerene i T2-mjerene snimke prije i nakon primjene kontrasta.

Mikroadenomi se tipično prikazuju blago hipointenzivno do izointenzivno na T1-mjerenoj snimci, a na T-2 mjerenoj snimci mogu biti izointenzivni do hiperintenzivni, ako nisu djelomično cistični ili ne sadrže zone krvarenja. Makroadenomi često izgledaju heterogeno na MR zbog zona krvarenja ili cističnih dijelova. Kod njih je najvažnije demarkirati granice prema normalnom tkivu hipofize i okolnim strukturama.

U upotrebi su i dinamičke snimke MR visoke rezolucije pojačane primjenom gadolinija koje omogućavaju otkrivanje manjih mikroadenoma, no nisu uvijek korisne jer mogu dati lažno pozitivne rezultate. U istraživačke svrhe se uz pomoć posebnih softvera izvodi volumetrijska analiza.

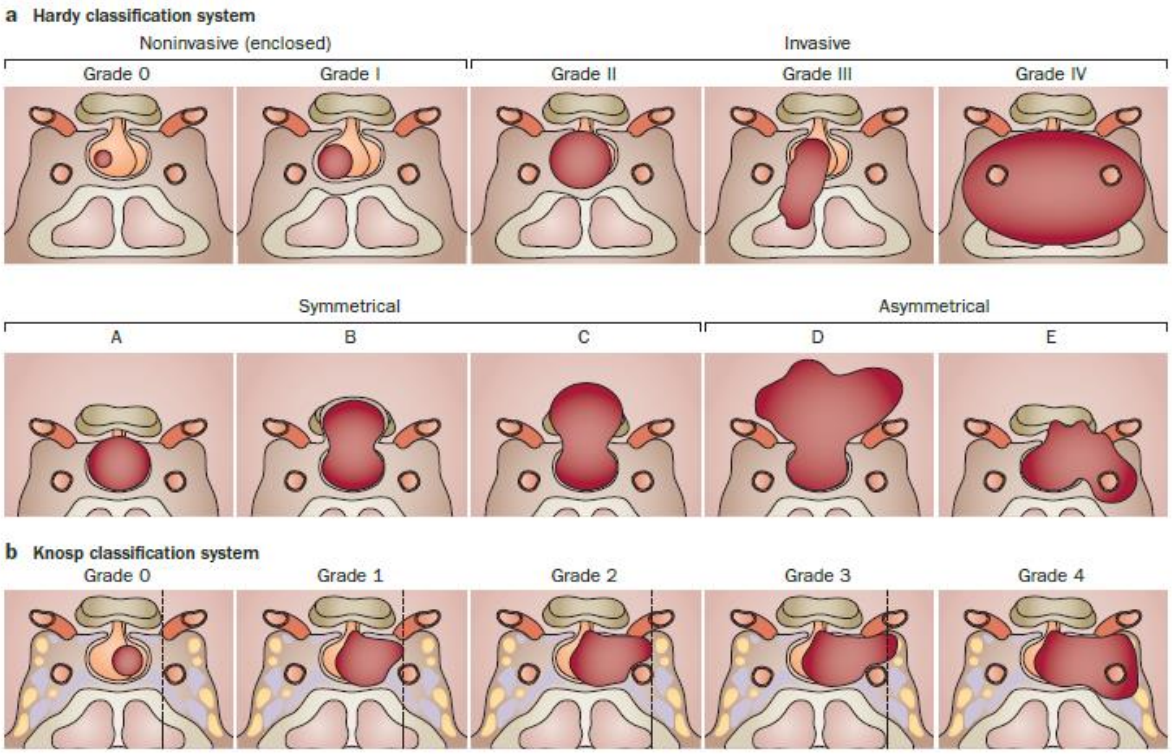
1.6.1. Neuroradiološka klasifikacija adenoma hipofize

Hardyjeva i Knospova klasifikacija se najčešće upotrebljavaju za određivanje neuroradiološke invazivnosti adenoma hipofize u istraživačke svrhe (prikazano na Slici 3, preuzeto iz Di Ieva i sur. (6)), dok se u svakodnevnoj kliničkoj praksi koristi pojednostavljena varijanta ovih klasifikacija.

Hardyjeva klasifikacija se koristi od 1969. godine (Slika 3.a). Prema njoj se tumori u odnosu na invaziju *selle turcice* dijele na invazivne i neinvazivne. Stadij III (lokalizirana destrukcija *selle*) i stadij IV (difuzna destrukcija *selle*) se smatraju invazivnim. Supraselarno širenje adenoma, koje može biti simetrično i asimetrično, se ne smatra obilježjem invazivnosti tumora, već može biti samo posljedica lokalnih anatomskih odnosa *selle turcice*, položaja adenoma unutar same hipofize i veličine otvora dijafragme *selle*. Mikroskopska invazija dure je vrlo česta pojava te se također ne smatra pouzdanim znakom invazivnosti adenoma.

Budući da su neka istraživanja pokazala da invazija kavernoznog sinusa korelira s agresivnošću adenoma, neki autori u literaturi za detaljnu karakterizaciju invazije kavernoznog sinusa koriste Knospovu klasifikaciju (Slika 3.b). Stadij 3 (adenom prelazi imaginarnu liniju koja spaja dva segmenta karotidne arterije) i stadij 4 (adenom u potpunosti obuhvaća unutarnju karotidnu arteriju) predstavljaju invazivne adenome.

Slika 3. Hardyjeva (a) i Knospova (b) klasifikacija (preuzeto iz Di Ieva i sur.) (6)



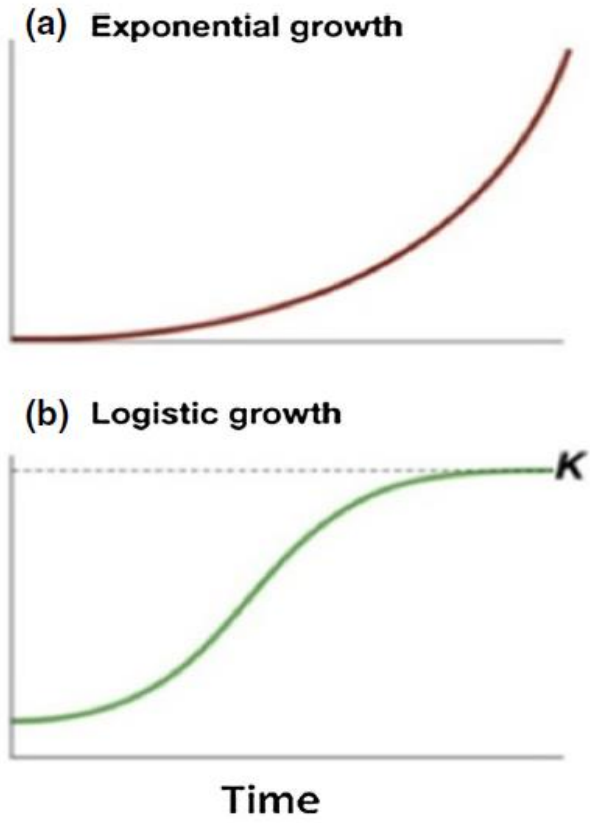
1.6.2. Neuroradiološko praćenje rasta adenoma hipofize

Poznavanje prirode rasta adenoma hipofize je važno jer nam daje uvid u njihovo kliničko ponašanje. Dok neki adenomi rastu sporo i zahtijevaju dugogodišnje neuroradiološko praćenje, drugi pokazuju agresivno ponašanje i zahtijevaju brze terapijske intervencije. Također, poseban problem predstavlja vrijeme do kada je potrebno praćenje bolesnika liječenih zbog adenoma hipofize, jer do sada ne postoje istraživanja koja bi ukazala na optimalno razdoblje praćenja. Reddy i sur. su pokazali da se učestalost recidiva nefunkcionalnih adenoma pojavljuje u čak 20% bolesnika nakon više od 10 godina praćenja (52).

U novije vrijeme se radi na matematičkom modelu koji bi najbolje opisao dinamiku rasta adenoma hipofize, kao što je već učinjeno za neke druge tumore. U ovim matematičkim modelima se kao osnovna neuroradiološka mjera brzine rasta koristi izraz vrijeme do podvostručenja tumora (TVDT, engl. *Tumor Volume Doubling Time*). Dosadašnja istraživanja su pokazala da su eksponencijalni ili logistički model precizniji za opis dinamike rasta tumora hipofize od linearnog modela (Slika 4) (53). Za

sada postoji samo nekoliko istraživanja o ovoj temi koja ukazuju na potrebu za individualiziranim pristupom pri neuroradiološkom praćenju.

Slika 4. Prikaz dva predložena matematička modela dinamike rasta adenoma hipofize (preuzeto iz Øystese i sur.) (53)



Formula prema kojoj se računa vrijeme do podvostručenja veličine tumora (TVDT), u kojoj je t1 vrijeme na početku mjerenja veličine tumora, t2 vrijeme na kraju mjerenja, V1 volumen adenoma na početku mjerenja i V2 volumen adenoma na kraju mjerenja:

$$TVDT = \frac{(\mathrm{t2} - \mathrm{t1})\log 2}{\log(V2 \div V1)}$$

1.7. Histološke karakteristike adenoma hipofize

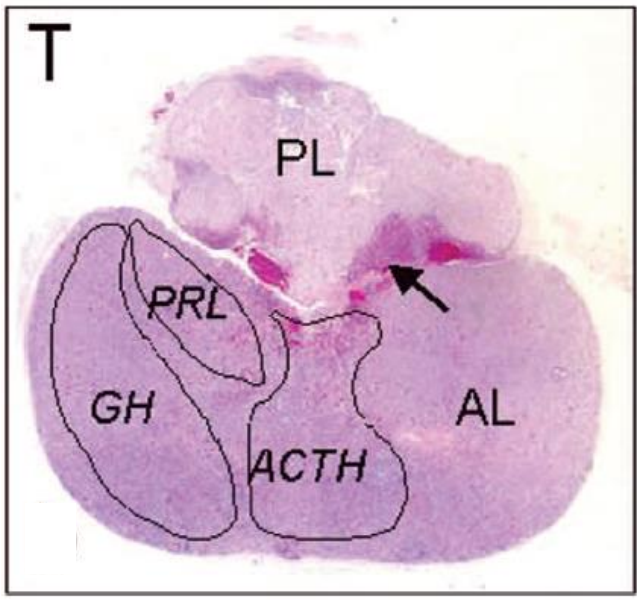
Histološka analiza predstavlja osnovu dijagnostike adenoma hipofize prema kriterijima Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO, engl. *World Health Organization*,

WHO) (54). Uzorak se inicijalno boji Hemalaun-Eozinom (HE) te se mikroskopski potvrđuje patohistološka dijagnoza adenoma i određuje mitotska aktivnost. Potom slijedi imunohistokemijska analiza koja podrazumijeva upotrebu antitijela kako bi se odredila ekspresija pojedinih hormona, na temelju koje se određuje o kojem tipu adenoma se radi: laktotropnom, somatotropnom, kortikotropnom, gonadotropnom, tireotropnom ili *"null-cell"* adenomu (Slika 5). Važno je napomenuti da je određeni broj adenoma tzv. plurihormonalan, odnosno pokazuju ekspresiju više hormona prema zajedničkoj liniji diferencijacije stanica adenohipofize (somatotropne, laktotropne, tireotropne). *„Null-cell"* adenomi su nefunkcionalni adenomi negativne imunohistokemijske ekspresije na tropne hormone. Za određivanje potpunog funkcionalnog statusa adenoma, osim imunohistokemijske analize, neophodna je evaluacija kliničkih simptoma i biokemijska analiza, stoga je neophodna bliska suradnja patologa i kliničara.

U većini specijaliziranih ustanova koje se bave ovom patologijom određuje se ekspresija pojedinih proliferacijskih faktora kao što su Ki-67 i p53, a u istraživačke svrhe i receptor za faktor rasta fibroblasta-4, matriks metaloproteinaza i drugi (55). Detaljna histološka analiza je važna s kliničkog stajališta, budući da se pokazalo da je jedan od najznačajnijih prediktora biološkog ponašanja adenoma hipofize (56).

Ultrastrukturna analiza uzorka upotrebom elektronske mikroskopije se ne koristi u svakodnevnoj kliničkoj praksi budući da je imunohistokemijska analiza toliko napredovala da može dati detaljnu klasifikaciju adenoma, a sama elektronska mikroskopija ne daje dodatne informacije važne za liječenje. Ipak, može biti korisna u određenim slučajevima kao npr. za karakterizaciju neobičnih adenoma koji se ne mogu klasificirati samo na temelju imunohistokemijske analize. Upotrebom elektronske mikroskopije se može izdiferencirati da li se radi o tzv. rahlom („*sparsely*") ili gustom (*„densely")* HR- pozitivnom, PRL- pozitivnom ili ACTH- pozitivnom adenomu. Ovi termini označavaju gustoću sekretornih granula unutar stanica adenoma, a mogli bi imati važnu primjenu budući da su istraživanja pokazala da "*sparsely*" granuliran HR-pozitivan adenom, "*densely*" granuliran PRL- pozitivan adenom i "*sparsely*" granuliran ACTH- pozitivan adenom imaju lošiju kliničku prognozu (57). Napredak u metodama imunohistokemijske analize je omogućio dijagnostiku nekih od ovih tipova tumora bez potrebe za elektronskim mikroskopom, no za sada se koriste samo u istraživačke svrhe.

Slika 5. Patohistološki uzorak transverzalnog prereza hipofize koji prikazuje prednji i stražnji režanj te geografsku distribuciju pojedenih staničnih tipova (uvećanje 10 x, preuzeto iz Asa SL) (2)



Legenda: T=transverzalni prerez, ACTH=kortikotropne stanice, AL=prednji režanj hipofize (engl. *anterior lobe*), GH=somatotropne stanice, PL=stražnji režanj hipofize (engl. *posterior lobe*), PRL=laktotropne stanice; tireotropne stanice su koncentrirane u prednjem medijalnom dijelu, a gonadotropne difuzno u parenhimu adenohipofize.
Strelicom je označena bazofilna invazija stražnjeg režnja hipofize kortikotropnim stanicama intermedijarnog dijela hipofize.

1.7.1. Proliferacijski markeri adenoma hipofize

Dobroćudni i agresivni adenomi hipofize mogu imati identičan histološki izgled te stoga razlike u biološkom ponašanju često nisu vidljive iz imunohistokemijske analize. Postoji jasna potreba za alternativnom i prognostički informativnijom dijagnostičkom metodom. Jedan pristup ovom problemu je istraživanje ekspresije specifičnih markera proliferacije, međutim za sada se niti jedan zasebno nije pokazao kao značajan u smislu prognostičke i/ili prediktivne vrijednosti. Tradicionalno se broj mitoza u uzorcima tumorskog tkiva bojenog HE koristio kao osnovni pokazatelj proliferacijske aktivnosti. Nedavni napredak u celularnoj i molekularnoj biologiji je omogućio primjenu novih tehnika mjerenja stanične kinetike i rasta, koje uključuju imunohistokemijske metode gdje se koriste monoklonalna protutijela usmjerena

izravno na protein staničnog ciklusa. Duže vremena je u upotrebi Ki-67, no transkripcijski faktor p53 još nije široko prihvaćen.

1.7.1.1. Ki-67

Jedan od najčešće upotrebljavanih markera proliferacijske aktivnosti u adenomima hipofize danas, ali i u onkologiji općenito je Ki-67. Radi se u nuklearnom antigenu koji je selektivno i privremeno prisutan tijekom G1, S, G2 i M faze staničnog ciklusa, a može se detektirati upotrebom MIB-1 protutijela (58). Burger i sur. su prvi put odredili njegovu ekspresiju u adenomima hipofize (59) te se od tada široko primjenjuje, no ekspresija ovog markera značajno varira (60). Dosadašnja istraživanja su pokazala da bi ovaj marker mogao biti povezan s brzinom rasta tumora hipofize (61), odgovorom na medikamentno liječenje (62), remisijom (63) i relapsom bolesti (64), dok je dio istraživanja prikazao upravo suprotne rezultate (65-68).

Procjena ekspresije Ki-67 je ovisna o mnogim varijablama, prije svega metodi koja se koristi. Neki autori koriste automatiziranu metodu, a drugi preferiraju manualnu. Osim toga, različit je i način određivanja ekspresije u samom uzorku tkiva, neki autori je određuju u dijelu s najgušćom ekspresijom, dok drugi procjenjuju prosječnu ekspresiju u cijelom uzroku ili na tri slučajno odabrana područja uzorka (69). Thapar i sur. su 1996. godine pokazali da prijelomna vrijednost Ki-67 od 3% jasno razgraničava invazivne i neinvazivne adenome hipofize (58), a tu vrijednost je preuzela SZO u klasifikaciji tumora hipofize 2004. godine (54).

1.7.1.2. P53

Ekspresija p53 se koristi kao drugi marker proliferacije adenoma hipofize. Lociran na kromosomu 17p13.1, tumor supresorski gen p53 kodira nuklearni fosfoprotein koji ima vrlo važnu ulogu u kontroli proliferacije stanice. Divlji oblik p53 ima važnu ulogu u očuvanju stanica od maligne proliferacije induciranjem apoptoze ili prestanka rasta stanice, no kada je mutiran ova funkcija je izgubljena i stanice prelaze u malignu transformaciju. Mutirana varijanta proteina p53, posljedica *missense* mutacije, osim gubitka kontrole normalnog staničnog rasta, posjeduje sposobnost poticanja abnormalnog rasta.

Divlji oblik p53 ima kratko vrijeme poluživota koje, uz njegovu nisku ekspresiju u normalnim stanicama, rezultira nemogućnošću detekcije u stanicama imunohistokemijskom analizom. Nasuprot tome, mutiranu formu p53 je moguće detektirati imunohistokemijski jer je stabilna, dužeg vremena poluživota i nakuplja se u jezgrama tumorskih stanica (70, 71). Ova metoda je koristan i brz alat za detekciju mutacije p53 u svakodnevnoj praksi, a koristi se kao pokazatelj agresivne prirode brojnih tumora. Neka istraživanja su pokazala da ekspresija p53 korelira s recidivom adenoma hipofize (72), dok druga istraživanja to nisu pokazala (66) te sukladno tome za sada nije poznato pravo značenje ekspresije p53 prema biološkom ponašanju adenoma hipofize neovisno o drugim proliferacijskim markerima.

1.8. Klasifikacija adenoma hipofize

U proteklih 40 godina klasifikacija tumora hipofize je evoluirala od bazične podjele na temelju bojanja na acidofilne, bazofilne i kromofobne adenome, prema imunohistokemijskoj podjeli na pet tipova i nekolicinu ultrastrukturnih tipova tumora. Pitanje je kakve kliničke i terapijske implikacije ima ovakva podjela. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) u klasifikaciji tumora hipofize iz 2004. godine je prvi put podijelila tumore hipofize u tri skupine: tipični adenom (ICD-0 8272/0), atipični adenom (ICD-0 8272/1) i karcinom (ICD-0 8272/2) (54). Posebno je zanimljivo te tijekom zadnjih godina propitivano, kliničko značenje atipičnog adenoma, odnosno tzv. graničnog adenoma nepoznatog malignog potencijala. Prema definiciji radi se o adenomima koji imaju atipične morfološke karakteristike koje ukazuju na potencijalno agresivno ponašanje u smislu invazivnog rasta, no uključuje i druge karakteristike: prisutnost mitoza, pozitivna ekspresija p53 i Ki-67 ≥3%. U navedenu klasifikaciju su uvršteni karcinomi hipofize, koji su rijetki (0,2%), a čija je osnovna karakteristika postojanje sistemske presadnice i/ili presadnice u središnji živčani sustav (73). Najčešće se radi o hormonski aktivnim tumorima, prolaktinomima ili kortikotropinomima.

Početkom 2017. godine je od strane SZO napravljena nova klasifikacija tumora hipofize, koja još nije u širokoj primjeni (74). U njoj se umjesto termina atipični adenom predlaže novi termin klinički agresivan tumor, budući da se pokazalo da 82,4% svih adenoma ima Ki-67 <3% te da čak 93,5% nefunkcionalnih adenoma ima Ki-67 <3%. Također, u novoj klasifikaciji se značajna pažnja pridodaje transkripcijskim faktorima

koji su važni za diferencijaciju pojedinih staničnih linija hipofize. Predloženo je da se dodatno, uz do sada navedene parametre, u imunohistokemijskoj analizi odredi ekspresija transkripcijskih faktora. Za sada se ne zna koje kliničke implikacije će imati nova klasifikacija.

1.8.1. Atipični adenomi

Predmet debate u znanstvenim krugovima je atipični adenom. Budući da nije poznato koja je učestalost ovog podtipa adenoma niti obrazac ponašanja, predstavljaju najveći terapijski izazov. Definiraju se prema specifičnim histološkim kriterijima: mitotska aktivnost, pozitivna ekspresija p53 i Ki-67 ≥3%. Atipični adenomi su izdvojeni kao posebna skupina jer je dio istraživača pokazao da imaju lošiju prognozu zbog invazivnosti, veličine i brzine rasta te nemogućnosti potpunog odstranjenja (55).

Do sada objavljena istraživanja su pokazala vrlo različitu učestalost atipičnih adenoma hipofize, od 2,5–15% (75, 76) što se objašnjava različitim kriterijima i metodologijom korištenom pri postavljanju dijagnoze.

Čini se da bi broj mitoza mogao biti jedan od pokazatelja proliferacijske aktivnosti adenoma. Dosadašnja istraživanja pokazala su da se mitoze rijetko nalaze u neinvazivnim adenomima (3,9% pacijenata), u usporedbi s invazivnim adenomima (21,4% pacijenata) i karcinomima (66,7% pacijenata) (77).

Akumulacija imunohistokemijski detektabilnog proteina p53 se pokazala kao dobar marker kliničkog i biološkog ponašanja širokog spektra tumora, budući da je ovaj protein pozitivan u svim karcinomima hipofize (78) i važan kriterij u klasifikaciji atipičnih adenoma (54). Zbog navedenih razloga p53 je predmet interesa istraživača, no problem je nedostatak metodoloških standarda i validiranih prijelomnih vrijednosti.

Skupina istraživača je predložila novu kliničko–patohistološku klasifikaciju adenoma hipofize koja uzima u obzir veličinu tumora i imunohistokemijski podtip, ali i invazivnost prema nalazu MR (79). Kao kriteriji za atipični adenom navodi se postojanje najmanje dva proliferacijska markera sa specifičnim prijelomnim vrijednostima (Ki-67 ≥3%, broj mitoza 2/10 polja i pozitivan p53). Za predloženu klasifikaciju se pokazalo da ima signifikantnu prognostičku i prediktivnu vrijednost za relaps ili progresiju bolesti nakon operacije adenoma hipofize. Problem je činjenica da za p53 nisu jasno definirane prijelomne vrijednosti.

Recentno objavljena dodatna analiza podataka iz Njemačkog registra tumora hipofize je pokazala broj mitoza ≥2/10 HPF (engl. *high power fields*) te p53 ≥2% kao prijelomne vrijednosti za dijagnozu atipičnih adenoma hipofize (80).

Dodatne kontroverze u ovo područje unosi najnovija klasifikacija tumora hipofize SZO iz 2017. godine koja predlaže ukidanje termina atipični adenom za čiju definiciju se koriste gore navedene prijelomne vrijednosti. Ove preporuke su uslijedile jer se pokazalo da je, prema definiciji SZO iz 2004. godine, većina adenoma hipofize tipična, da incidencija atipičnih adenoma varira od 2-15% te da se u proteklih 10 godina upotrebe gore navedene klasifikacije nije jasno dokazala prognostička važnost atipičnih adenoma. U međuvremenu se pokazalo da tek ekstenzivna ekspresija Ki-67>20-30%, neovisno o veličini tumora ili lokalnoj invaziji, ukazuje na agresivni oblik adenoma hipofize koji može progredirati u karcinom. Preporuke nove SZO klasifikacije su da se rutinski kod svih bolesnika odredi mitotska aktivnost i ekspresija Ki-67 te u određenim slučajevima p53 budući da se pokazao kao dobar indikator malignog potencijala adenoma hipofize. S druge strane najnovije preporuke ekspertnog tima Europskog endokrinološkog društva (ESE, engl. *European Society of Endocrinology*) iz 2017. godine su da se kod svih bolesnika odredi barem ekspresija Ki-67, a ekspresija p53 i mitotska aktivnost svakako ako je Ki-67 ≥3% (81).

1.9. Liječenje i praćenje bolesnika s adenomima hipofize

Tijekom protekla četiri desetljeća prva linija liječenja adenoma hipofize, izuzev prolaktinoma, je neurokirurški zahvat. Prednosti operativnog liječenja, učinjenog od strane iskusnog neurokirurga u specijaliziranim ustanovama, su brzo povlačenje kliničkih simptoma i znakova bolesti te prekidanje negativnog učinka hipersekrecije hormona na ciljne organe. Slijede drugi modaliteti medikamentnog i radioterapijskog liječenja ovisno o funkcionalnom tipu i agresivnosti tumora. Farmakoterapija kao prva linija liječenja dolazi u obzir kod funkcionalnih adenoma, dok za nefunkcionalne nema dovoljno podataka o učinkovitosti. Osobiti izazov je procjena kada pristupiti radioterapiji koja ima dobar antitumorski učinak, no nosi značajan rizik za bolesnika, prvenstveno razvoj hipopituitarizma, kognitivnog oštećenja te povećanje rizika za razvoj cerebrovaskularne bolesti tijekom života. Kod bolesnika s invazivnim, agresivnim, recidivirajućim adenomom koji nije u potpunosti odstranjen operativnim zahvatom, dolazi u obzir radioterapija (79). Stereotaksijska radiokirurgija je indicirana

za bolesnike čiji adenom je manji od 3 cm i udaljen 3-5 mm od optičke hijazme. Pokazalo se da je učinkovitija kod bolesnika starijih od 50 godina, manjih adenoma (<5 cm^3) te onih adenoma koji prethodno nisu zračeni (82).

U novije vrijeme se u terapiji posebno agresivnih adenoma i karcinoma hipofize koristi kemoterapeutik temozolomid, lijek koji se inače koristi u terapiji glioma. Za sada ne postoje jasne smjernice za njegovu primjenu budući da u literaturi postoje samo prikazi slučajeva i manje serije bolesnika. Pokazalo se da njegov učinak na smanjenje veličine tumora iznosi 37% (83), a najbolji odgovor su imali agresivni prolaktinomi (73%) i kortikotropinomi (60%) (83). Postoje određeni dokazi da bi ishod liječenja temozolomidom mogao ovisiti o ekspresiji MGMT (06-metilgvanin-DNA metil transferaza), enzimu popravka DNA koji potencijalno interferira s učinkom liječenja (84), no podaci su za sada nekonzistentni. Najčešće se koristi kod agresivnih, recidivirajućih adenoma kod kojih druge linije liječenja nisu polučile željeni terapijski učinak, no prema recentnim smjernicama ovaj lijek se može koristiti i kao prva linija liječenja kod agresivnih tumora (81). Iako se temozolomid čini kao obećavajuća opcija, potrebna su dodatna prospektivna istraživanja koja bi rasvijetlila potencijalnu terapijsku ulogu ovog lijeka u liječenju tumora hipofize.

1.10. Svrha rada

Usprkos brojnim istraživanjima još uvijek ne možemo rano prepoznati bolesnike s adenomom hipofize koji će imati nepovoljan klinički tijek. Svrha ovog rada je savladavanje kontradiktornosti dosadašnjih istraživanja o ulozi specifičnih histoloških proliferacijskih markera kao pretkazatelja kliničkoga ponašanja adenoma hipofize te pronalaženje potencijalno boljeg modela procjene rizika recidiva ili progresije bolesti, odabira optimalnog modaliteta liječenja te predviđanje ishoda bolesti.

2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

Ekspresija histoloških markera Ki-67 i p53 te mitotska aktivnost stanica adenoma pozitivno koreliraju s učestalošću recidiva i progresije veličine ostatnog adenoma hipofize.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. Glavni cilj

Ispitati utječe li ekspresija histoloških markera Ki-67, p53 i mitotska aktivnost stanica adenoma na učestalost recidiva i progresije veličine ostatnog adenoma hipofize.

3.2. Sporedni ciljevi

1. Analizirati klinički tijek bolesnika s adenomima hipofize u razdoblju praćenja od pet godina.
2. Usporediti ekspresiju Ki-67, p53 i broja mitoza između različitih tipova adenoma hipofize.
3. Ispitati povezanost ekspresije Ki-67, p53 i broja mitoza s recidivom adenoma.
4. Ispitati povezanost ekspresije Ki-67, p53 i broja mitoza s progresijom veličine rezidualnog adenoma.

4. ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA

4.1. Ispitanici

U ovo retrospektivno istraživanje, koje je obuhvatilo razdoblje između 1. siječnja 2005. godine i 31. prosinca 2011. godine, je uključeno 133 bolesnika u dobi od 18 do 85 godina kojima je u navedenom razdoblju na MR selarne regije postavljena dijagnoza adenoma hipofize i učinjen operativni zahvat odstranjenja istog. Nakon toga su ispitanici liječeni i praćeni tijekom najmanje pet godina. Podaci su prikupljeni iz dostupne medicinske dokumentacije, završno sa svibnjem 2017. godine. Istraživanje je provedeno u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb. Iz praćenja je izgubljeno ukupno 36 bolesnika. Tri bolesnika koja su praćena duže od pet godina nisu uključena u analizu jer nije bio dostupan uzorak za analizu ekspresije proliferacijskih markera. Konačna analiza je učinjena na ukupno 94 bolesnika.

Svim ispitanicima su prikupljeni anamnestički podaci, učinjen klinički pregled i dijagnostička obrada. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC Zagreb kao i od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.2. Uključni i isključni kriteriji

U istraživanje su uključeni bolesnici s adenomom hipofize kojima je učinjena transsfenoidna ili transkranijska operacija u Klinici za neurokirurgiju KBC Zagreb od strane dva neurokirurga i otorinolaringologa. Uzorak tkiva adenoma je upućen na patohistološku analizu u Klinički zavod za patologiju i citologiju KBC Zagreb. Iz istraživanja su isključeni bolesnici s adenomom hipofize koji su prije operativnog zahvata liječeni drugim modalitetima liječenja (medikamentno ili radioterapija), kao i bolesnici u čijem uzorku je imunohistokemijska analiza otežana zbog nekroze i/ili krvarenja.

4.3. Plan istraživanja

Prije operativnog zahvata svim bolesnicima je učinjena hormonska obrada u Zavodu za endokrinologiju kako bi se utvrdilo radi li se o funkcionalnom ili

nefunkcionalnom adenomu te postoji li insuficijencija hormona adenohipofize. Bolesnicima je u 8 h natašte uzet uzorak krvi iz koje su komercijalnim dijagnostičkim testovima određeni: koncentracija kortizola, ACTH, fT4, FSH i LH, a 30. minuta nakon postavljanja braunile je uzet uzorak za prolaktin. U slučajevima kada se radilo o velikom adenomu hipofize izmjeren je i prolaktin u razrjeđenju da se isključi „*hook* efekt“. Svim muškarcima je uzet uzorak krvi za mjerenje ukupnog testosterona.

Invazivnost adenoma je definirana prema radiološkim karakteristikama na MR selarne regije, a podrazumijevala je širenje tumora u kavernozni i/ili sfenoidni sinus te okolne strukture (klivus, talamus, treća komora, orbita, piramidna kost, etmoidni sinusi, nazofarinks, temporalni režanj, pons, stražnja lubanjska jama, frontalni režanj). Širenje adenoma supraselarno nije uzeto kao kriterij invazivnosti.

Nakon operativnog zahvata je učinjena imunohistokemijska analiza uzorka tkiva kojom je određena ekspresija pojedinih hormona te mitotska aktivnost i ekspresija histoloških markera Ki-67 i p53. **Proliferacijske karakteristike adenoma hipofize** su definirane prema broju mitoza te ekspresiji histoloških proliferacijskih markera Ki-67 i p53. Nakon operativnog zahvata je, prema proliferacijskim karakteristikama, definirano radi li se o tipičnom ili atipičnom adenomu (79). **Atipični adenomi** su imali Ki-67 ≥3%, pozitivnu ekspresiju p53 i vidljivu mitotsku aktivnost.

Tri do šest mjeseci nakon operativnog zahvata bolesnicima je učinjena evaluacija ishoda nakon prve linije liječenja, koja je uključivala radiološku obradu (kontrolnu MR selarne regije) kod svih bolesnika s nefunkcionalnim adenomima te kod dijela bolesnika s funkcionalnim adenomima u cilju detekcije rezidue adenoma. Kod funkcionalnih adenoma učinjena je hormonska obrada kako bi se ispitala aktivnost bolesti. Kod svih bolesnika je ispitivano postoji li insuficijencija hormona adenohipofize nakon operacije. Endokrinološka obrada ponovljena je i na kontrolnim pregledima, ovisno o kliničkoj slici za određeni tip funkcionalnog adenoma kao i za evaluaciju osi hipotalamus-hipofiza-ciljni organ.

Bolesnici su nakon neurokirurškog liječenja podijeljeni u dvije skupine, onu s rezidualnim adenomom i bez rezidue tumora te je praćen njihov klinički tijek do svibnja 2017. godine. Kliničko ponašanje adenoma smo definirali s obzirom na tijek nakon operacije: kao **agresivne** adenome smo definirali one čija rezidua je rasla tijekom razdoblja praćenja ili su imali recidiv nakon inicijalnog potpunog odstranjenja, a kao **neagresivne** smo definirali adenome sa stabilnom reziduom tijekom razdoblja praćenja. **Recidiv bolesti** je definiran kao pojava adenoma na MR nakon potpunog

odstranjenja i/ili reaktivacija kod funkcionalnih adenoma. **Progresija bolesti** je definirana kao porast veličine rezidue na MR za >3 mm i/ili porast vrijednosti hormona kod funkcionalnih adenoma.

4.4. Biokemijske metode

Hormoni su određivani preporučenim standardnim metodama prema pravilima dobre laboratorijske prakse i uputama proizvođača. Za određivanje koncentracije kortizola i ACTH u serumu te količine kortizola u urinu korištena je elektrokemiluminescencija (ECLIA, Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Testosteron je određen enzimimunokemijskom metodom (ELISA, Ortho Clinical Diagonstics, Johnson & Johnson, Amersham, Velika Britanija), a prolaktin, FSH i LH imunokemijskom analizom s ligandima (Abbott Architect i1000sr, Abbott Park, IL, SAD). Za fT4 je korištena imunoanaliza (CMIA, Abbott Architect iSystem, Singapur).

Endokrinološki testovi

Test stimulacije sa sintetskim ACTH

Ovaj je test korišten za ispitivanje kortikotropne funkcije hipofize. Bolesnicima je primijenjeno 250 μg sintetskog ACTH (kozintropin, tvorničkog naziva Synacthen) intravenski. Po 5 ml krvi za mjerenje kortizola izvađeno je neposredno prije primjene Synacthena te nakon 30 i 60 minuta. Test je učinjen prije operacije, 3-6 mjeseci nakon operativnog zahvata te na kontrolama kod bolesnika s insuficijencijom kortikotropnih stanica adenohipofize.

Test inzulinske hipoglikemije (ITT)

Ovaj je test korišten za ispitivanje kortikotropne funkcije hipofize (do 2010. godine) kao i za ispitivanje somatotropne funkcije hipofize. Bolesnicima je ujutro u 8 h natašte izvađeno 5 ml krvi za mjerenje glukoze, kortizola i hormona rasta. Nakon toga je apliciran inzulin (0,15-0,3 IJ/kg) te nastavljeno mjerenje glukoze, kortizola i hormona rasta u krvi u 30., 45., 60., 90. i 120. minuti.

Oralni test opterećenja glukozom (OGTT)

Ovaj je test korišten za postavljanje dijagnoze akromegalije te pri evaluaciji uspješnosti kirurškog liječenja akromegalije. U testu je mjerena koncentracija glukoze i hormona rasta neposredno prije te potom svakih 30 minuta (do ukupno 120 minuta) nakon peroralnog unosa otopine koja sadrži 75 g glukoze.

Prekonoćni deksametazonski test

Ovaj je test korišten za postavljanje dijagnoze Cushingovog sindroma. U 8 h je bolesnicima izvađena krv za mjerenje kortizola, nakon što su večer ranije u 23 h popili 1 mg deksametazona. Test je učinjen prije operacije kod svih bolesnika sa sumnjom na Cushingovu bolest i ponavljan je na kontrolnim pregledima kod svih bolesnika operiranih zbog kortikotropinoma.

Mali deksametazonski test (Liddle-ov test)

Ovaj je test korišten za postavljanje dijagnoze Cushingovog sindroma. U 8 h je bolesnicima izvađena krv za mjerenje kortizola, nakon što su kroz 2 dana primali 0,5 mg deksametazona u 4 dnevne doze (ukupna doza 2 mg).

4.5. Kriteriji za dijagnozu pojedinih bolesti i poremećaja funkcije stanica prednjeg režnja hipofize

4.5.1. Evaluacija osi hipotalamus–hipofiza-nadbubrežne žlijezde

Funkcija osi hipotalamus–hipofiza-nadbubrežne žlijezde evaluirana je mjerenjem koncentracije kortizola u serumu i testom stimulacije sa sintetskim ACTH (250 μg). Koncentracija kortizola u serumu u 8 h <130 nmol/L označavala je insuficijenciju kortikotropnih stanica hipofize. Koncentracija kortizola u serumu u 8 h >330 nmol/L označavala je normalnu funkciju osovine hipotalamus–hipofiza-nadbubrežne žlijezde. Kod koncentracija kortizola u serumu između 130 i 330 nmol/L učinjen je test stimulacije sa sintetskim ACTH ili test inzulinske hipoglikemije.

Koncentracija kortizola viša od 550 nmol/L u stimulacijskim testovima označavala je urednu funkciju navedene hormonske osovine.

4.5.2. Evaluacija osi hipotalamus–hipofiza–štitnjača

Normalna funkcija tireotropnih stanica je definirana vrijednošću fT4 iznad donje referentne vrijednosti za laboratorij (normalna vrijednost: 10-25 pmol/L).

4.5.3. Evaluacija osi hipotalamus–hipofiza–gonade

Redovite menstruacije u žena reproduktivne dobi označavale su urednu gonadotropnu funkciju hipofize. U postmenopauzalnih žena, koncentracije FSH >20 IU/L i LH >15 IU/L označavale su urednu funkciju gonadotropnih stanica adenohipofize.
Koncentracija ukupnog testosterona u serumu >10,4 nmol/L, uz odsustvo simptoma hipogonadizma označavalo je normalnu funkciju gonadotropnih stanica adenohipofize u muškaraca.

4.5.4. Cushingova bolest

Cushingov sindrom je biokemijski definiran na temelju nalaza slobodnog kortizola u 24 h urinu iznad referentnih vrijednosti (>379 nmol/24 h), izostanka supresije kortizola <138 nmol/L u prekonoćnom (1 mg) i/ili malom (4 x 0,5 mg) deksametazonskom testu. Od 2011. godine određivan je kortizol u serumu u ponoć, u Cushingovom sindromu je iznosio >50 nmol/L za bolesnike koji spavaju, a >207 nmol/L za budne. Cushingova bolest je potvrđena ako je ACTH bio nesuprimiran. Kateterizacija donjih petroznih sinusa s CRH (engl. *corticotrophin-releasing hormone*) stimulacijom je učinjena kod bolesnika kojima adenom nije bio vidljiv na MR. Za razlikovanje između Cushingove bolesti i ektopične sekrecije ACTH je korišten omjer donji petrozni sinus/periferni ACTH veći od 2,0 u početnom stanju i/ili veći od 3,0 nakon CRH stimulacije.

4.5.5. Prolaktinom

Prolaktinom je definiran povišenim vrijednostima prolaktina u 30. minuti više od 5 puta iznad gornje referentne vrijednosti (>23 μg/L) uz karakteristične kliničke simptome i imunohistokemijsku potvrdu.

4.5.6. Akromegalija

Akromegalija je definirana povišenim vrijednostima IGF-1 u serumu s obzirom na dob uz izostanak supresije hormona rasta <1ug/L u oralnom testu opterećenja glukozom (75 g glukoze).

4.6. Imunohistokemijske metode

Iz tumorskih preparata uklopljenih u parafinske kocke narezani se slojevi debljine 4-5 mikrometra za imunohistokemijsku analizu. Najprije su preparati bojani Hemalaun-Eozinom (HE) te je mikroskopski potvrđena patohistološka dijagnoza adenoma hipofize. Tkiva su fiksirana kroz 24 sata u 10% puferiranom neutralnom formalinu i uklopljena u parafinske blokove. Odabran je reprezentativan parafinski blok iz kojeg su rezani rezovi debljine 4-5 mikrometara te bojani Hemalaun-Eozinom. Standardni imunohistokemijski kitovi su korišteni za analizu funkcionalnosti adenoma hipofize. Za imunohistokemijsko bojanje korištena su sljedeća protutijela: p53 protein i Ki-67 (Monoclonal mouse anti-human, Dako, Glostrup, Danska). Za imunohistokemijsko bojanje korištena je standardna metoda Envision staining kit (Dako, Glostrup, Danska), a bojanje je učinjeno automatizirano (Dako Autostainer). Protutijelo p53 je korišteno u razrjeđenju 1:50, dok je Ki-67 protutijelo korišteno u razrjeđenju 1:25. Za sva protutijela je upotrijebljena pozitivna kontrola. Reakcija antigen-antitijelo je vizualizirana diaminobenzidinom (DAB) i prikazana kao smeđe obojenje u preparatima. Uzorci su analizirani svjetlosnim mikroskopom. Za protutijela p53 i Ki-67 pozitivna reakcija je očitana kao nuklearno bojanje.

4.7. Statističke metode

Dobiveni podaci su prikazani deskriptivnom statistikom. Za detekciju nezavisne povezanosti predmnijevanih prediktora i pokazatelja kliničkog ponašanja adenoma korištena je Cox-ova regresija proporcionalnog rizika. Za analizu povezanosti

ekspresije Ki-67, p53 i mitotske aktivnosti s kliničkim ishodom korištena je logistička regresija. Razina statističke značajnosti (p) je postavljena na $p<0,05$. Podaci su analizirani upotrebom programske podrške SPSS, ver. 15.0.

5. REZULTATI

5.1. Prikaz općih značajki populacije

Opće značajke populacije 94 bolesnika (36 žena i 58 muškaraca) operiranih zbog adenoma hipofize prikazane su u Tablici 1. Medijan dobi ispitanika je bio 52,3 godine (raspon 18,1–76,1 godina). Žene su činile 38,3%, a muškarci 61,7% ispitanika. Medijan dužine praćenja bolesnika je iznosio 88,3 mjeseci (raspon 60,9–143,1 mjeseci), 16 bolesnika je praćeno duže od 10 godina (17%). Medijan veličine adenoma je bio 28 mm (raspon 6-53 mm); 7,4% bolesnika je imalo mikroadenom, a 92,6% makroadenom hipofize (11 bolesnika je imalo adenom veći od 4 cm – „divovski adenom“, *engl. giant adenoma*). Nefunkcionalne adenome hipofize je imalo 56,4% bolesnika, a funkcionalne 43,6%, od čega je akromegaliju imalo 56,1% bolesnika, prolaktinom 29,3%, a Cushingovu bolest 14,6% bolesnika. Bolesnici s nefunkcionalnim adenomom su imali statistički značajno veći adenom u usporedbi s bolesnicima s funkcionalnim adenomom (30 (14-53 mm) vs. 15 (6-53 mm), p=0,001).

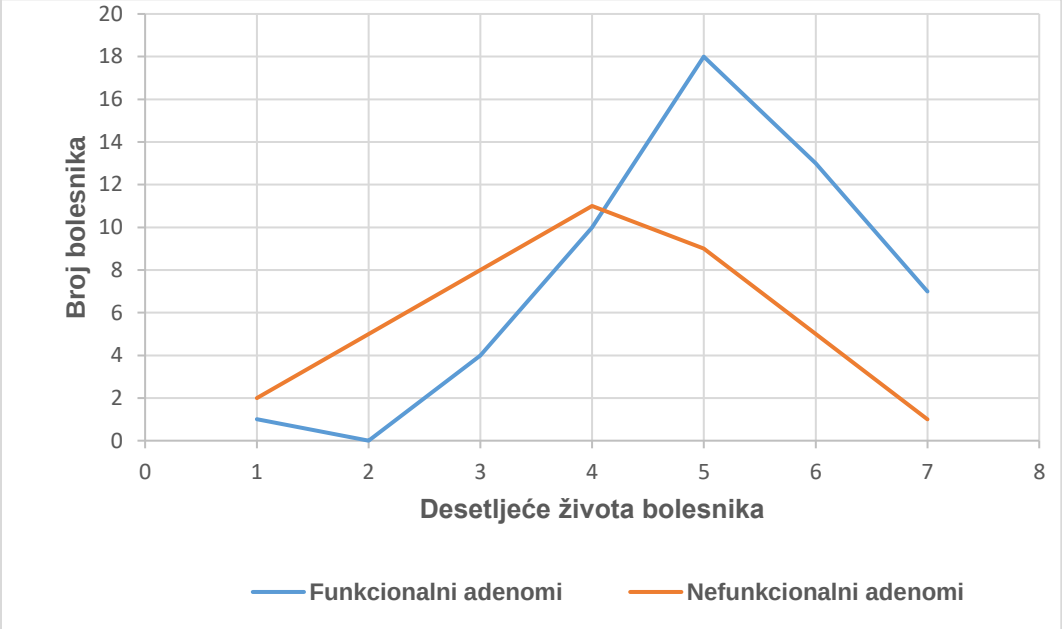
Tablica 1. Opći podaci o bolesnicima

N	**94**
Dob (godine)*	52,3 (18,1-76,1)
Spol (M/Ž)	58/36
Dužina praćenja (mjeseci)*	88,3 (60,9-143,1)
Funkcionalnost (funkcionalni/nefunkcionalni)	41/53
Akromegalija	23
Prolaktinom	12
Cushingova bolest	6
Veličina (makroadenom/mikroadenom)	87/7
Veličina - najduži promjer (mm)*	28 (6-53)

M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon)

Graf 1 prikazuje distribuciju bolesnika prema dobi. Funkcionalni adenomi su češće dijagnosticirani u mlađoj životnoj dobi (<40 godina) u usporedbi s bolesnicima s nefunkcionalnim adenomima.

Graf 1. Distribucija bolesnika prema dobi



5.2. Prikaz rezultata liječenja i kliničkoga tijeka

5.2.1. Prva linija liječenja

U analizu metoda i uspješnosti liječenja su uključeni svi bolesnici operirani zbog adenoma hipofize u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb od 2005. do 2011. godine koji su praćeni kroz razdoblje od najmanje pet godina. Transsfenoidna ablacija adenoma hipofize je korištena kao prva linija liječenja kod 87 bolesnika, dok je transkranijski pristup korišten kod 7 bolesnika.

Nakon neurokirurškog liječenja 36,2% bolesnika nije imalo rezidualni adenom dok je većina (63,8%) imala ostatni tumor (Tablica 2). Veći broj bolesnika s nefunkcionalnim adenomima nakon operacije nije imalo reziduu u odnosu na bolesnike s funkcionalnim adenomom (N=38, 71,7% vs. N=22, 53,7%).

Tablica 2. Ishod neurokirurškog liječenja bolesnika s funkcionalnim (N=41) i nefunkcionalnim adenomom (N=53)

Ishod liječenja	Funkcionalni adenomi (N, %)	Nefunkcionalni adenomi (N, %)	Svi bolesnici (N, %)
Bez rezidue	19 (46,3)	15 (28,3)	34 (36,2)
S reziduom	22 (53,7)	38 (71,7)	60 (63,8)

5.2.2. Ostale linije liječenja

Budući da je kod 60 bolesnika nakon neurokirurškog liječenja bila prisutna rezidua, odnosno biokemijski aktivna bolest kod funkcionalnih adenoma, liječenje je nastavljeno drugom linijom liječenja. U ovu analizu je uključeno i troje bolesnika s recidivom bolesti, tako da je skupinu sačinjavalo 40 bolesnika s nefunkcionalnim i 23 s funkcionalnim adenomom (Tablica 3).

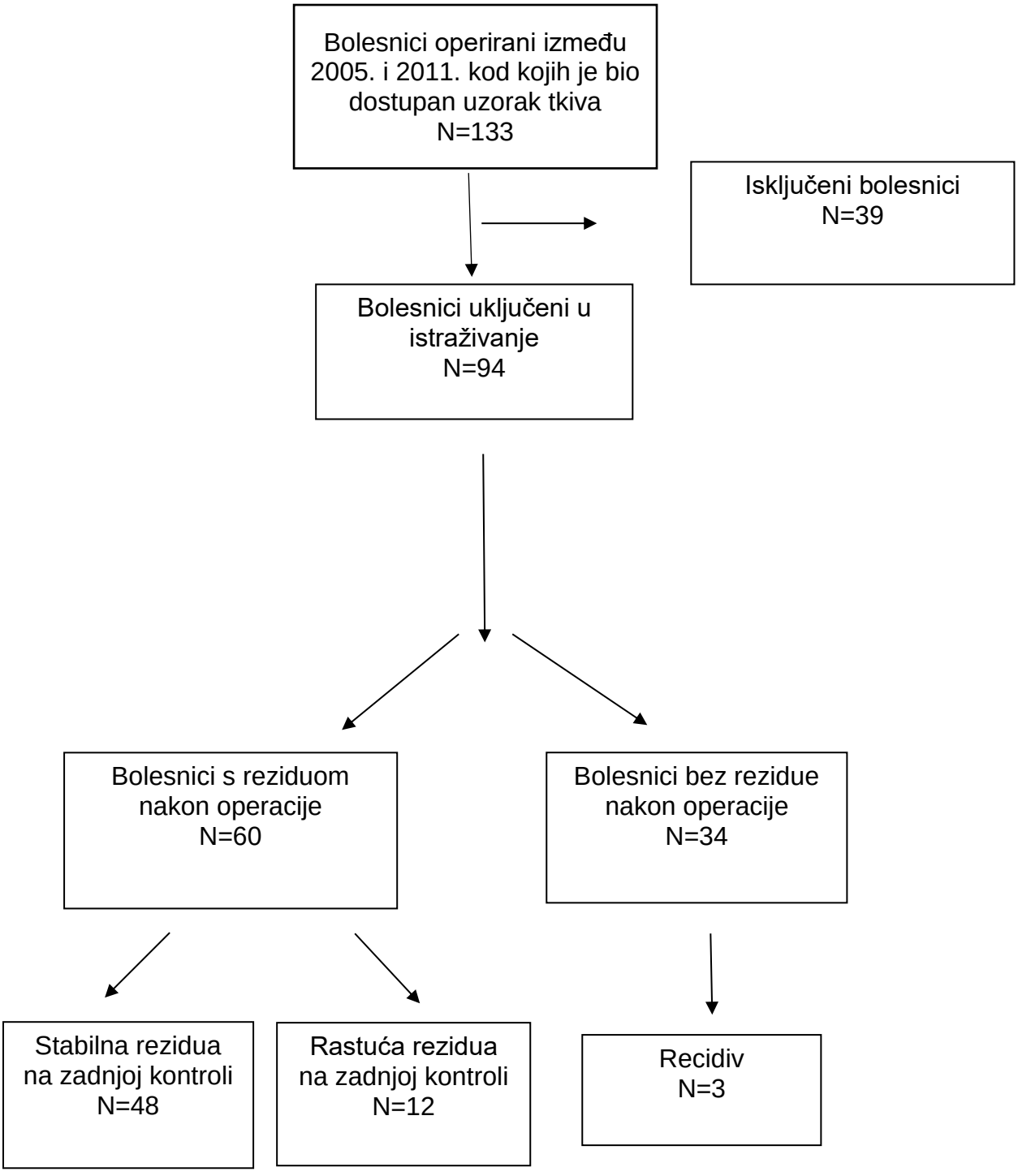
Ponovnom neurokirurškom zahvatu je podvrgnuto 23 bolesnika, od kojih je šestero ponovo operirano unutar 6 mjeseci od prvog zahvata. Radioterapija je provedena kod 37 bolesnika, kod 34/37 bolesnika je provedena stereotaksijska radiokirurgija (gamma nožem), a kod 3/37 konvencionalna radioterapija. Kod četvero bolesnika radioterapija je provedena unutar 6 mjeseci od prve operacije. Nakon stereotaksijske radiokirurgije kod tri bolesnika došlo je do porasta rezidue, kod jednog bolesnika nakon 2 godine, kod jedne bolesnice nakon tri godine te kod jednog bolesnika nakon 9 godina od zračenja. Medikamentnu terapiju je primio 21 bolesnik: najveći broj bolesnika je liječen bromokriptinom (N=14), potom sandostatinom (N=8), kabergolinom (N=4) i temozolomidom (N=2). Ketokonazol i pegvizomant su primijenjeni kod po jednog bolesnika. Kod deset bolesnika nije provedena druga linija liječenja već su samo praćeni radiološki, biokemijski i klinički. Slika 6 prikazuje sve bolesnike uključene u istraživanje.

Tablica 3. Prikaz svih bolesnika s reziduom/recidivom tijekom razdoblja praćenja prema provedenim metodama liječenja nakon neurokirurškog zahvata (N=63)

Modalitet liječenja	**Nefunkcionalni adenomi, N=40 N (%)**	**Funkcionalni adenomi, N=23 N (%)**
Reoperacija	6 (15)	-
Reoperacija+RT	7 (17,5)	-
Reoperacija+M	1 (2,5)*	4 (17,4)
Reoperacija+RT+M	-	5 (21,7)
RT	16 (40)	3 (13)
RT+M	1 (2,5)*	5 (21,7)
M	-	5 (21,7)

RT=radioterapija, M=medikamentna terapija

*Nefunkcionalni adenomi na medikamentnoj terapiji: jedan bolesnik ima "*silent"* ACTH adenom, a jedna bolesnica gonadotropinom



Slika 6. Prikaz ispitanika

Usporedili smo bolesnike koji su analizirani u istraživanju, a praćeni su duže od pet godina (N=94) s bolesnicima koje nismo uključili u analizu budući da su praćeni kraće od pet godina (N=36). Tri bolesnika koja su praćena duže od pet godina nisu imala adekvatan patohistološki uzorak za analizu ekspresije proliferacijskih markera. Pokazalo se da je u skupini praćenoj duže od pet godina bilo značajno više bolesnika s funkcionalnim adenomom i većom ekspresijom p53 (p=0,011 i p=0,000). U skupini praćenoj duže od pet godina značajno je zastupljeniji bio muški spol (p=0,009) (Tablica 4).

Tablica 4. Usporedba skupine bolesnika praćenih duže (N=94) i kraće (N=36) od pet godina

Varijabla	**Praćenje < 5 godina (N=36)**	**Praćenje > 5 godina (N=94)**	**P**
Dob	55 (18-79)	52,3 (18,1-76,1)	NS
Spol			
M/Ž	13/23	58/35	0,009
Veličina adenoma (mm)*	24 (5-55)	28 (6-53)	NS
Funkcionalnost			
Nefunkcionalni/funkcionalni	29/7	53/41	0,011
Ki-67*	1,86 (0-15)	1 (0-20)	NS
P53 (Negativan/pozitivan)	20/12	62/23	0,000
Mitoze (Negativne/pozitivne)	31/2	85/9	NS

M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon)

Tablica 5 prikazuje ishod liječenja nakon svih provedenih modaliteta liječenja. Stabilnu reziduu tijekom razdoblja praćenja je imalo 48/60 bolesnika (80%), od toga je 10 bolesnika s funkcionalnim adenomom na medikamentnoj terapiji. Rastuću reziduu i recidiv bolesti je imalo 15/63 bolesnika (23,8%). Troje bolesnika je tijekom razdoblja praćenja imalo recidiv bolesti nakon potpunog odstranjenja adenoma (jedna bolesnica s Cushingovom bolesti i dva bolesnika s nefunkcionalnim adenomom).

Veći broj bolesnika s nefunkcionalnim adenomom je imalo porast rezidue/recidiv u usporedbi s bolesnicima s funkcionalnim adenomom (N=10, 25% vs. N=5, 21,7%). Veći broj bolesnika s funkcionalnim adenomom je imalo stabilnu reziduu u usporedbi s bolesnicima s nefunkcionalnim adenomom (N=18, 78,3% vs. N=30, 75%).

Tablica 5. Ishod liječenja nakon svih provedenih modaliteta liječenja na zadnjoj kontroli (N=94)

Ishod liječenja	**Funkcionalni adenomi, N=41 (N, %)**	**Nefunkcionalni adenomi, N=53 (N, %)**	**Svi bolesnici, N=94 (N, %)**
Bez rezidue	18 (43,9)	13 (24,5)	31 (32,9)
Sa stabilnom reziduom*	18 (78,3)	30 (75)	48 (76,2)
S rastućom reziduom/recidivom	5 (21,7)	10 (25)	15 (23,8)

* 10 bolesnika s funkcionalnim adenomom je na medikamentnoj terapiji

5.3. Prikaz bolesnika prema funkciji adenohipofize (hipopituitarizam)

Učinjena je evaluacija funkcije prednjeg režnja hipofize prije i nakon provedenog liječenja. Tablica 6 prikazuje udio bolesnika koji su prije i nakon provedenog liječenja imali insuficijenciju nekog od hormona hipofize. Više od dvije trećine bolesnika je prije neurokirurškog zahvata imalo ispad najmanje jedne osovine adenohipofize (69,1%), dok je nakon svih provedenih modaliteta liječenja ovaj broj bio znatno manji (57,4%) što ukazuje na oporavak dijela stanica prednjeg režnja hipofize nakon liječenja adenoma.

Tablica 6. Prikaz bolesnika prema pituitarnoj funkciji

Funkcija hipofize	Uredna (N, %)	Ispad barem jedne osovine (N, %)	Nepoznato (N, %)
Prije operacije	21 (22,3)	65 (69,1)	8 (8,5)
Nakon svih modaliteta liječenje	34 (36,2)	54 (57,4)	6 (6,4)

5.4. Prikaz bolesnika prema radiološkim i histološkim karakteristikama

U uzorcima tkiva adenoma učinjena je imunohistokemijska analiza. Najveći broj bolesnika (N=39) je imalo nefunkcionalni adenom, koji je prema imunohistokemijskoj analizi bio *"null-cell"* ili gonadotropinom. Somatotropinom, koji je imunohistokemijski bio HR+ ili plurihormonalan u kojem je većina stanica bila pozitivna na HR, a manji dio na PRL, je imalo 23 bolesnika. Kortikotropinom je imalo 6 bolesnika. Prolaktinom, koji je prema imunohistokemijskoj analizi bio PRL+ ili plurihormonalan u kojem je većina stanica bila PRL+, a manji dio HR+, je imalo 12 bolesnika. Jedan bolesnik je imao tireotropinom, 7 bolesnika *"silent"* HR adenom, dok je 6 bolesnika imalo "*silent"* ACTH adenom. Jedan bolesnik s akromegalijom je imao dva adenoma, somatotropinom i gonadotropinom. U Tablici 7 su prikazane radiološke i histološke karakteristike adenoma hipofize.

Medijan ekspresije proliferacijskog markera Ki-67 za sve bolesnike je iznosio 1 (0-20%). U 26,1% ispitanih adenoma p53 je bio pozitivan, a mitotska aktivnost vidljiva u 9,6% adenoma. Većina bolesnika, 70/94 (74,5%) je imalo ekspresiju Ki-67 <3%. Bolesnici s funkcionalnim adenomom su imali statistički značajno veću ekspresiju Ki-67 u usporedbi s nefunkcionalnim adenomima (2%, medijan 1-20% vs. 1%, medijan 1-10%, p=0,012).

Tablica 7. Prikaz radioloških i histoloških karakteristika adenoma ovisno o imunohistokemijskim karakteristikama

	Nefunkcionalni adenomi, *"null-cell"* i gonadotropinomi (N=39)	**Somatotropinomi, HR+ i plurihormonalni* (N=23)**	**Kortikotropinomi (N=6)**	**Prolaktinomi, PRL+ i plurihormonalni** (N=12)**	**Tireotropinomi (N=1)**	***"Silent"* ACTH adenomi (N=6)**	***"Silent"* HR adenomi (N=7)**
Lokalna invazija	23	11	0	8	0	5	4
Invazija kavernoznog sinusa	21	7	0	8	0	5	4
Invazija sfenoidnog sinusa	14	9	0	6	0	5	3
Ki-67	1 (1-10)	1 (1-10)	1 (1-20)	3,5 (0-9)	5,6	1 (1-5)	2 (1-5)
p53 (Pozitivno/negativno)	11/26	1/17	2/3	6/5	0/1	1/5	2/5
Mitoze (Pozitivno/negativno)	3/36	4/19	0/6	2/10	0/1	0/6	0/7

*Plurihormonalni su imunohistokemijski u većini stanica HR+, manji dio stanica je PRL+, a kod jednog bolesnika i manji dio stanica je TSH+

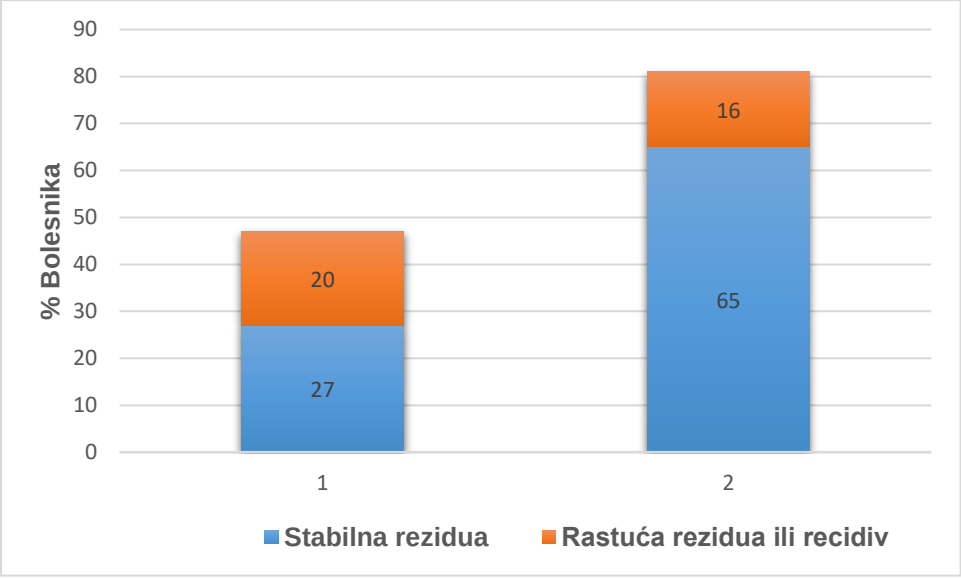
** Plurihormonalni su imunohistokemijski u većini stanica PRL+, a manji dio stanica je HR+

5.5. Rezultati analize kliničkih, radioloških i histoloških karakteristika adenoma hipofize

Prije operativnog zahvata smo, prema neuroradiološkim kriterijima invazivnosti, bolesnike (N=81) podijelili u dvije skupine, invazivne i neinvazivne. Njih 63% je imalo invazivan adenom. Za 13 bolesnika nismo imali podatke o radiološkoj invazivnosti. Kada smo usporedili ove dvije skupine pokazalo se da su invazivni adenomi bili češći kod muškaraca (p=0,009) i većeg promjera (p<0,001) od neinvazivnih.Također, pokazano je da su bolesnici s invazivnim adenomom značajno češće imali rezidualni tumor (p=0,002) (Tablica 8). Nije bilo razlike u invazivnosti između funkcionalnih i nefunkcionalnih adenoma (p=0,405).

Bolesnike smo nakon operativnog zahvata grupirali prema kliničkoj agresivnosti adenoma: **agresivni** su oni adenomi čija je rezidua rasla tijekom razdoblja praćenja ili su imali recidiv nakon inicijalnog potpunog odstranjenja, a **neagresivni** adenomi sa stabilnom reziduom tijekom razdoblja praćenja. Od 41 bolesnika s invazivnim adenomom koji su imali reziduu kod 65% je ona bila stabilna, a kod 16% je rasla ili su imali recidiv (Graf 2).

Graf 2. Prikaz bolesnika prema invazivnosti i statusu rezidue na zadnjoj kontroli



Legenda: 1= neinvazivni adenomi, 2= invazivni adenomi

Tablica 8. Usporedba kliničkih i histoloških karakteristika između bolesnika s invazivnim i neinvazivnim adenomom

	Invazivni adenomi (N=51)	**Neinvazivni adenomi (N=30)**	**P**
Dob, godine*	53,3 (18,1±73,9)	54,5 (27,1-75)	NS
Veličina adenoma, mm*	32 (10-53)	22 (6-35)	<0,001
Spol			0,009
M (N, %)	37 (72,5)	13 (43,3)	
Ž (N, %)	14 (27,5)	17 (56,7)	
Rezidua			0,002
Bez rezidue/stabilna rezidua (N, %)	43 (84,3)	24 (80)	
Bez rezidue (N, %)	10 (19,6)	16 (53,3)	
Stabilna rezidua (N, %)	33 (64,7)	8 (26,7)	
Rastuća rezidua/recidiv (N, %)	8 (15,7)	6 (20)	
Rastuća rezidua (N, %)	6 (11,8)	5 (16,7)	
Recidiv (N, %)	2 (3,9)	1 (3,3)	
Ki-67*	1 (1-9)	1 (1-20)	NS
≥3% (N, %)	13 (25,5)[a]	8 (26,7)	
<3% (N, %)	35 (68,6)[a]	22 (73,3)	
Mitoze			NS
Da (N, %)	47 (92,2)	28 (93,3)	
Ne (N, %)	4 (7,8)	2 (6,7)	
P53			NS
Negativan (N, %)	38 (74,5)	17 (56,7)[b]	
Pozitivan (N, %)	10 (19,6)	9 (30)[b]	

M=muškarci, Ž=žene; *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za tri bolesnika, [b] Nedostaju podaci za četiri bolesnika

Prema kliničko–patološkoj klasifikaciju Trouillas i sur. (Tablica 9) najveći broj bolesnika je imalo neproliferativni adenom. Od njih je većina, 60,3% bolesnika, imala radiološki invazivni adenom (stadij 2a), a značajno manji broj, 33,7%, neinvazivni adenom (stadij 1a). Značajno manji broj bolesnika je imao proliferativni adenom, od toga 3,6% neinvazivni adenom (stadij 1b), dok je 2,4% imalo invazivni adenom (stadij 2b). Niti jedan bolesnik nije imao metastatski tumor.

Tablica 9. Prikaz bolesnika po stadijima prema klasifikaciji Trouillas i sur.

Gradus	N (%)
1a (neinvazivni adenom)	28 (33,7)
1b (neinvazivni i proliferativni adenom)	3 (3,6)
2a (invazivni adenom)	50 (60,3)
2b (invazivni i proliferativni adenom)	2 (2,4)
3 (metastatski tumor)	0 (0,0)

Usporedbom kliničkih, radioloških i histoloških parametara bolesnika sa stabilnom/rastućom reziduom i onih bez rezidue nađena je veća ekspresija Ki-67 u skupini bolesnika s reziduom (p=0,009). U ovoj skupini bolesnika su adenomi bili veći (p<0,001) i invazivniji (p=0,002). Također, nađena je značajna razlika u gradusima po kliničko-patološkoj klasifikaciji (Touillas i sur.) između bolesnika sa stabilnom/rastućom reziduom u usporedbi s bolesnicima bez rezidue (p=0,016) (Tablica 10). Rezidua adenoma je bila češće prisutna kod muškaraca i nefunkcionalnih adenoma, a navedena razlika je bila na granici statističke značajnosti (p=0,064 i p=0,051).

Bolesnici s rastućom reziduom/recidivom su u usporedbi sa svim ostalim bolesnicima imali veću ekspresiju Ki-67 (p<0,001) i veći promjer adenoma (p=0,045). Također, ovi su bolesnici bili mlađi, no razlika nije dosegnula razinu statističke značajnosti (p=0,071) (Tablica 11).

Usporedbom bolesnika sa stabilnom reziduom i onih kojima je rezidua rasla ili su imali recidiv tijekom razdoblja praćenja, nađeno je da bolesnici sa stabilnom reziduom imaju značajno manji Ki-67 (p=0,005) (Tablica 12).

Tablica 10. Usporedba kliničkih, radioloških i histoloških parametara između bolesnika sa stabilnom/rastućom reziduom i onih bez rezidue

	Stabilna/rastuća rezidua (N=60)	**Bez rezidue (N=31)**	**P**
Ki-67*	1 (1-10)	1 (1-4)	0,009
Mitoze			NS
Ne (N, %)	52 (86,7)	30 (96,8)	
Da (N, %)	8 (13,3)	1 (3,2)	
P53			NS
Negativan (N, %)	42 (70)	18 (58)[a]	
Pozitivan (N, %)	13 (21,7)	9 (29)[a]	
Veličina adenoma, mm*	32 (9-53)	14,5 (6-30)	<0,001
Dob, godine*	54,1 (18,3-76,1)	55,5 (18,1-70,9)	NS
Spol			0,064
M (N, %)	41 (68,3)	15 (48,4)	
Ž (N, %)	19 (31,7)	16 (51,6	
Invazivnost			0,002
Da (N, %)	39 (65)	10 (32,3)[b]	
Ne (N, %)	13 (21,7)	16 (51,6)[b]	
Funkcionalnost			0,051
Nefunkcionalan (N, %)	38 (63,3)	13 (41,9)	
Funkcionalan (N, %)	22 (36,7)	18 (58,1)	
≥4 cm (N, %)	11 (18,3)	0 (0)[c]	NS
<4 cm (N, %)	33 (55)	23 (74,2)[c]	
Gradus po Trouillas i sur.			0,016
1a (N, %)	12 (20)[e]	15 (48,4)[d]	
1b (N, %)	2 (3,3)[e]	1 (3,2)[d]	
2a (N, %)	39 (65)[e]	10 (32,3)[d]	
2b (N, %)	2 (3,3)[e]	0 (0)[d]	

M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za četiri bolesnika, [b] Nedostaju podaci za pet bolesnika, [c] Nedostaju podaci za osam bolesnika, [d] Nedostaju podaci za pet bolesnika, [e] Nedostaju podaci za pet bolesnika

Tablica 11. Usporedba kliničkih, radioloških i histoloških parametara između bolesnika s rastućom reziduom/recidivom i svih ostalih bolesnika s adenomom

	Rastuća rezidua/ recidiv (N=15)	**Stabilna rezidua/bez rezidue (N=79)**	**P**
Ki-67*	5 (1-20)	1 (1-10)	<0,001
Mitoze			NS
Ne (N, %)	12 (80)	73 (92,4)	
Da (N, %)	3 (20)	6 (7,6)	
P53[a]			NS
Negativan (N, %)	12 (80)	50 (63,3)	
Pozitivan (N, %)	2 (13,3)	21 (26,6)	
Veličina adenoma, mm*	35 (14-53)	25 (6-53)	0,045
Dob, godine*	48,4 (20,8-73,1)	54,5 (18,1-76,1)	0,071
Spol			NS
M (N, %)	10 (66,7)	48 (60,8)	
Ž (N, %)	5 (33,3)	31 (39,2)	
Invazivnost[b]			NS
Da (N, %)	8 (53,3)	43 (54,4)	
Ne (N, %)	6 (40)	24 (30,4)	
Funkcionalnost			NS
Nefunkcionalan (N, %)	10 (66,7)	43 (54,4)	
Funkcionalan (N, %)	5 (33,3)	36 (45,6)	
≥4 cm (N, %)	3 (20)	8 (10,1)	NS
<4 cm (N, %)	10 (66,7)	49 (62)	
Gradus po Trouillas i sur.			NS
1a (N, %)	4 (26,7)[c]	23 (29,1)[d]	
1b (N, %)	2 (13,3)[c]	1 (1,3)[d]	
2a (N, %)	8 (53,3)[c]	41 (51,9)[d]	
2b (N, %)	0 (0)[c]	2 (2,5)[d]	

M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za devet bolesnika, [b] Nedostaju podaci za 13 bolesnika, [c] Nedostaju podaci za jednog bolesnika, [d] Nedostaju podaci za 12 bolesnika

Tablica 12. Usporedba kliničkih, radioloških i histoloških parametara između bolesnika s rastućom reziduom/recidivom i onih sa stabilnom reziduom

	Rastuća rezidua/ recidiv (N=15)	**Stabilna rezidua (N=48)**	**P**
Ki-67*	5 (1-20)	1 (1-10)	0,005
Mitoze			NS
Ne (N, %)	12 (80)	43 (89,6)	
Da (N, %)	3 (20)	5 (10,4)	
P53			NS
Negativan (N, %)	12 (80)	32 (66,7)[a]	
Pozitivan (N, %)	2 (13,3)	12 (25)[a]	
Veličina adenoma, mm*	35 (14-53)	30 (9-53)	NS
Dob, godine*	48,4 (20,8-73,1)	54,5 (18,3-76,1)	NS
Invazivnost			NS
Da (N, %)	8 (53,3)	33 (68,8)[b]	
Ne (N, %)	6 (40)	8 (16,7)[b]	
Spol			NS
M (N, %)	10 (66,7)	33 (68,8)	
Ž (N, %)	5 (33,3)	15 (31,2)	
Funkcionalnost			NS
Nefunkcionalan (N, %)	10 (66,7)	30 (62,5)	
Funkcionalan (N, %)	5 (33,3)	18 (37,5)	
≥4 cm (N, %)	3 (20)	8 (16,7)[c]	0,015
<4 cm (N, %)	10 (66,7)	26 (54,2)[c]	
Gradus po Trouillas i sur.			NS
1a (N, %)	4 (26,7)[e]	8 (16,7)[d]	
1b (N, %)	2 (13,3)[e]	0 (0)[d]	
2a (N, %)	8 (53,3)[e]	31 (64,6)[d]	
2b (N, %)	0 (0)[e]	2 (4,2)[d]	

*Podaci su prikazani kao medijan (raspon); M=muškarci, Ž=žene, [a] Nedostaju podaci za četiri bolesnika, [b] Nedostaju podaci za sedam bolesnika, [c] Nedostaju podaci za 14 bolesnika, [d] Nedostaju podaci za sedam bolesnika, [e] Nedostaju podaci za jednog bolesnika

5.6. Prognostička važnost kliničkih, radioloških i histoloških karakteristika adenoma hipofize

Upotrebom logističke regresije analizirali smo prognostičku važnost različitih kliničkih, radioloških i histoloških varijabli. Veličina adenoma ima statistički značajnu prognostičku vrijednost za prisutnost rezidue nakon neurokirurškog liječenja (p=0,027) (Tablica 13). Niti jedna od ispitivanih varijabli nije imala statistički značajnu prognostičku vrijednost za rast rezidue ili nastanak recidiva (Tablica 14 i 15).

Tablica 13. Prognostička važnost kliničkih, radioloških i histoloških varijabli za bolesnike sa stabilnom/rastućom reziduom i onih bez rezidue

	Stabilna/ rastuća rezidua (N=60)	**Bez rezidue (N=31)**	**OR**	**CI**	**P**
Ki-67					
≥3	21 (35)[a]	3 (9,7)	2,731	0,007-1000,809	0,738
<3	37 (61,7)[a]	27 (87,1)			
Mitoze					
Ne (N, %)	8 (13,3)	30 (96,8)			1,0
Da (N, %)	52 (86,7)	1 (3,2)			
P53					
Negativno (N, %)	42 (70)[b]	18 (58)	0,339	0,011-10,446	0,536
Pozitivno (N, %)	13 (21,7)[b]	9 (29)			
Veličina adenoma, mm*	32 (9-53)	14,5 (6-30)	0,588	0,368-0,941	0,027
Dob, godine*	54,1 (18,3-76,1)	55,5 (18,1-70,9)	1,003	0,86-1,169	0,969
Spol					
M (N, %)	41 (68,3)	15 (48,4)	28,493	0,215-3770,098	0,179
Ž (N, %)	19 (31,7)	16 (51,6)			
Veličina adenoma					
Mikroadenom (N, %)	2 (3,3)	5 (16,1)			1,0
Makroadenom (N, %)	58 (96,7)	26 (83,9)			
Gradus po Trouillas i sur.					
1a (N, %)	12 (20)[c]	15 (48,4)[d]			1,0
1b (N, %)	2 (3,3)[c]	1 (3,2)[d]			1,0
2a (N, %)	39 (65)[c]	10 (32,3)[d]			1,0
2b (N, %)	2 (3,3)[c]	0 (0)[d]			
Tip tumora					
PRL	9 (15)	3 (9,7)			1,0
FSH/LH/*"null-cell"*	27 (45)	11 (35,5)			1,0
ACTH	6 (10)	4 (12,9)			1,0
HR	17 (28,3)	13 (41,9)			1,0
TSH	1 (1,7)	0			

OR=*odds ratio*, CI=*confidence interval*, M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za dva bolesnika, [b] Nedostaju podaci za pet bolesnika, [c] Nedostaju podaci za pet bolesnika, [d] Nedostaju podaci za pet bolesnika

Tablica 14. Prognostička važnost kliničkih, radioloških i histoloških varijabli za bolesnike s rastućom reziduom/recidivom i svih ostalih bolesnika s adenomima

	Rastuća rezidua/ Recidiv (N=15)	**Stabilna rezidua/ bez rezidue (N=79)**	**OR**	**CI**	**P**
Ki-67					
≥3	8 (53,3)	18 (22,8)	0,924	0,101-8,447	1,0
<3	6 (40)	59 (74,7)[a]			1,0
Mitoze					
Ne (N, %)	12 (80)	73 (92,4)	3,263	0,292-36,427	0,337
Da (N, %)	3 (20)	6 (7,6)			
P53					
Negativno (N, %)	12 (80)	50 (63,3)			1,0
Pozitivno (N, %)	2 (13,3)	21 (26,6)			
Veličina adenoma, mm*	35 (14-53)	25 (6-53)	0,898	0,779-1,034	0,134
Dob, godine*	48,4 (20,8-73,1)	54,5 (18,1-76,1)	1,08	0,986-1,183	0,096
Spol					
M (N, %)	10 (66,7)	48 (60,8)	0,258	0,013-5,307	0,38
Ž (N, %)	5 (33,3)	31 (39,2)			
Veličina adenoma					
Mikroadenom (N, %)	1 (6,7)	6 (7,6)			1,0
Makroadenom (N, %)	14 (93,3)	73 (92,4)			1,0
Gradus po Trouillas i sur.					
1a (N, %)	4 (26,7)[c]	23 (29,1)[b]			1,0
1b (N, %)	2 (13,3)[c]	1 (1,3)[b]			1,0
2a (N, %)	8 (53,3)[c]	41 (51,9)[b]			1,0
2b (N, %)	0 (0)[c]	2 (2,5)[b]			1,0
Tip tumora					
PRL	1 (6,7)	11 (13,9)			1,0
FSH/LH/”*null-cell”*	6 (40)	33 (41,8)			1,0
ACTH	4 (26,7)	8 (10,1)			1,0
HR	3 (20)	27 (34,2)			1,0
TSH	1 (6,7)				

OR=*odds ratio*, CI=*confidence interval*, M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za dva bolesnika, [b] Nedostaju podaci za 12 bolesnika, [c] Nedostaju podaci za jednog bolesnika

Tablica 15. Prognostička važnost kliničkih, radioloških i histoloških varijabli za bolesnike s rastućom reziduom/recidivom i onih sa stabilnom reziduom

	Rastuća rezidua/ recidiv (N=15)	**Stabilna rezidua (N=48)**	**OR**	**CI**	**P**
Ki-67					
≥3	8 (53,3)	15 (31,3)	0,563	0,051-6,221	0,639
<3	6 (40)	32 (66,7)[c]			
Mitoze					
Ne (N, %)	12 (80)	43 (89,6)	0,321	0,028-3,631	0,359
Da (N, %)	3 (20)	5 (10,4)			
P53					
Negativno (N, %)	12 (80)	32 (66,7)			1,0
Pozitivno (N, %)	2 (13,3)	12 (25)			
Veličina adenoma, mm*	35 (14-53)	30 (9-53)	1,004	0,889-1,226	0,603
Dob, godine*	48,4 (20,8-73,1)	54,5 (18,3-76,1)	0,908	0,814-1,012	0,082
Spol					
M (N, %)	10 (66,7)	33 (68,8)	7,05	0,149-332,806	0,321
Ž (N, %)	5 (33,3)	15 (31,2)			
Veličina adenoma					
Mikroadenom (N, %)	1 (6,7)	1 (2,4)			1,0
Makroadenom (N, %)	14 (93,3)	47 (97,9)			
Trouillas i sur.					0,894
1a (N, %)	4 (26,7)[a]	8 (16,7)[b]			1,0
1b (N, %)	2 (13,3)[a]	0 (0)[b]			1,0
2a (N, %)	8 (53,3)[a]	31 (64,6)[b]			1,0
2b (N, %)	0 (0)[a]	2 (4,2)[b]			
Tip tumora					0,931
PRL	1 (6,7)	8 (16,7)			1,0
FSH/LH/"*null-cell"*	6 (40)	22 (45,8)			1,0
ACTH	4 (26,7)	4 (8,3)			1,0
HR	3 (20)	14 (29,2)			1,0
TSH	1 (6,7)	0			

OR=*odds ratio*, CI=*confidence interval*, M=muškarci, Ž=žene, *Podaci su prikazani kao medijan (raspon), [a] Nedostaju podaci za jednog bolesnika, [b] Nedostaju podaci za sedam bolesnika, [c] Nedostaju podaci za jednog bolesnika

Usporedbom ekspresije histoloških markera Ki-67, p53 te broja mitoza i različitih kliničkih varijabli utvrđeno je da su bolesnici s funkcionalnim adenomom imali statistički značajno veću ekspresiju Ki-67 (p=0,012). Pored toga, bolesnici s rastućom reziduom i recidivom su imali značajno veći Ki-67 u usporedbi sa svim ostalim bolesnicima (p=0,006), odnosno skupinom bolesnika sa stabilnom reziduom (p=0,04) (Tablica 16).

Tablica 16. Usporedba histoloških markera Ki-67, p53 te broja mitoza i kliničkih karakteristika adenoma hipofize

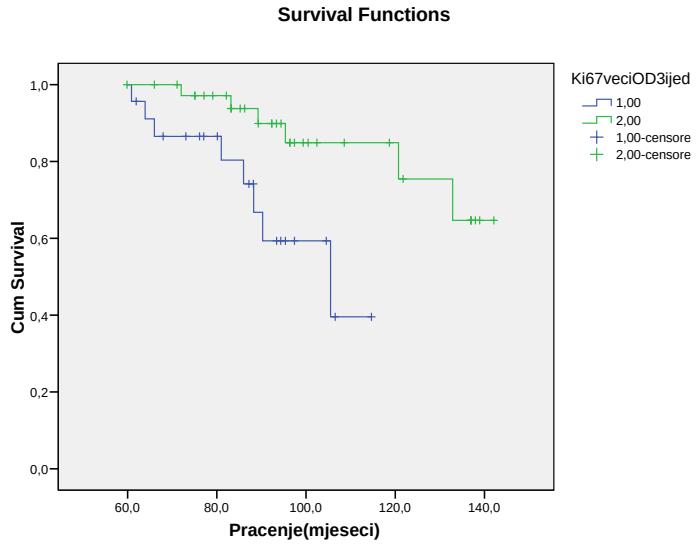
Klinička varijabla	**Ki-67***	**P**	**P53 (Negativno/ pozitivno) N**	**P**	**Mitoze (Ne/Da) N**	**P**
Dob**						
<52 godine	1,5 (0-10)	NS	29/11	NS	41/4	NS
≥52 godine	1 (1-20)		33/12		44/5	
Veličina						
Mikroadenom	1 (0-10)	NS	3/2	NS	7/0	NS
Makroadenom	1 (1-20)		59/21		78/9	
Funkcionalnost						
Da	2 (0-20)	0,012	25/9	NS	35/6	NS
Ne	1 (1-10)		37/14		50/3	
Invazivnost						
Da	1 (1-9)	NS	38/10	NS	47/4	NS
Ne	1 (0-20)		17/9		28/2	
Stabilna/rastuća rezidua	1 (1-10)	0,009	42/13	NS	52/8	NS
Bez rezidue	1 (0-6)		18/9		30/1	
Rastuća rezidua/ recidiv	5,3 (1-20)	0,006	12/2	NS	12/3	NS
Stabilna rezidua/bez rezidue	1 (0-10)		50/21		73/6	
Rastuća rezidua/ recidiv	5,3 (1-20)	0,04	12/2	NS	12/3	NS
Stabilna rezidua	1 (1-10)		32/12		43/5	

*Podaci su prikazani kao medijan (raspon), **Medijan dobi ispitanika u istraživanju je bio 52,3 godine (raspon 18,1 – 76,1 godina)

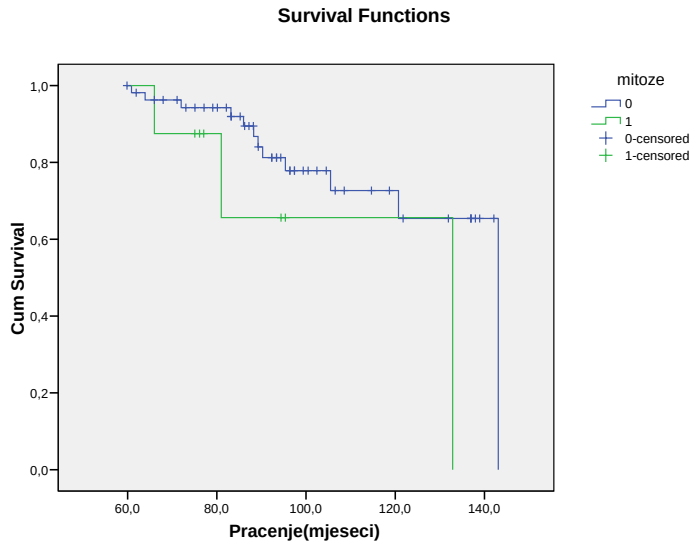
U testu korelacije nađena je statistički značajna povezanost između ekspresije proliferacijskog markera Ki-67 i rasta rezidue/pojave recidiva tumora (p<0,001, koeficijent korelacije 0,507). Ekspresija p53 i mitotska aktivnost nisu povezane s navedenim kliničkim ishodima (p=0,201 i p=0,26).

Kaplan-Meierova analiza pokazala je statistički značajnu razliku u vremenu do progresije rezidue odnosno pojave recidiva adenoma između bolesnika s Ki-67 ≥3% u odnosu na bolesnike s Ki-67 <3% (p=0,007) (Graf 3). Ekspresija p53 i mitotska aktivnost nisu imali utjecaj na progresiju veličine rezidue/pojavu recidiva (p=0,278 i p=0,141) (Graf 4 i 5).

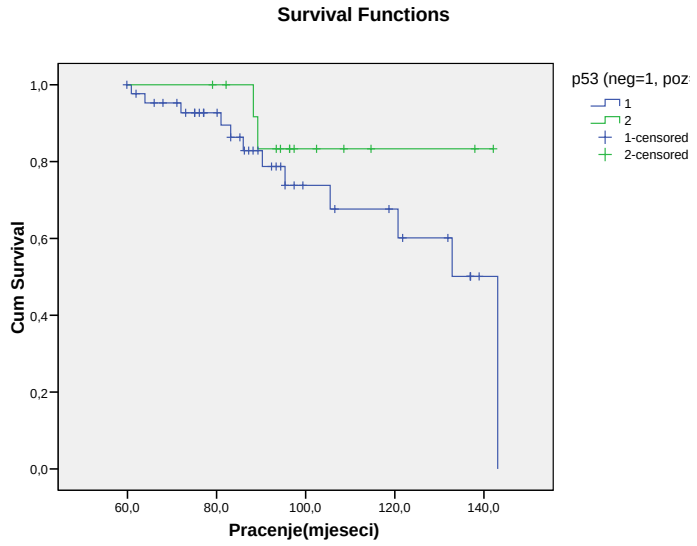
Graf 3. Kaplan-Meierova krivulja progresije rezidue adenoma kod prijelomne vrijednosti Ki-67 3%



Graf 4. Kaplan-Meierova krivulja progresije rezidue adenoma ovisno o mitotskoj aktivnosti



Graf 5. Kaplan-Meierova krivulja progresije rezidue adenoma ovisno o ekspresiji proliferacijskog markera p53



5.7. Prikaz bolesnika s atipičnim adenomom

Šest bolesnika je imalo kriterije za atipični adenom hipofize (Tablica 17), od kojih je kod svih tumor bio funkcionalan. Jedna bolesnica je imala mikroadenom, dok se kod ostalih radilo o makroadenomu. Dvije bolesnice su samo praćene, a kod preostalih četvero je primijenjeno dodatno liječenje (ponovna operacija, radioterapija, a od medikamentne terapije su primijenjeni bromokriptin, temozolomid i ketokonazol). Na zadnjoj kontroli su svi bolesnici s atipičnim adenomom bili u remisiji bolesti.

Tablica 17. Kliničke, radiološke i histološke karakteristike bolesnika s atipičnim adenomom (N=6)

Slučaj	Dob (godine)/ Spol	Veličina tumora	Neuroradiološka proširenost	Reoperacija	Dodatna terapija	Funkcionalnost	Imunohistokemijska analiza	Ki-67 (%)	Ishod liječenja
1	60/Ž	Mikroadenom	Nije proširen	Ne	Ne	Funkcionalni	PRL	4,00	Remisija
2	21/M	Makroadenom	Supraselarno	Ne	Radioterapija	Funkcionalni	PRL+HR	7,00	Remisija
3	39/M	Makroadenom	Supraselarno, kavernozni i sfenoidni sinus, treća komora	Da	Bromokriptin	Funkcionalni	PRL	7,20	Remisija
4	37/M	Makroadenom	Supraselarno i kavernozni sinus	Ne	Radioterapija, bromokriptin	Funkcionalni	PRL	8,00	Remisija uz terapiju
5	57/Ž	Makroadenom	Nepoznato	Ne	Ne	Funkcionalni	PRL	5,80	Remisija
6	59/Ž	Makroadenom	Supraselarno	Da	Radioterapija, temozolomid, ketokonazol	Funkcionalni	ACTH	20,00	Remisija

M=muškarci, Ž=žene, PRL=prolaktinom, PRL+HR=plurihormonalan adenom, ACTH=kortikotropinom

6. RASPRAVA

6.1. Osvrt na klinički tijek i rezultate liječenja bolesnika s adenomima hipofize

Ovim retrospektivnim istraživanjem obuhvaćeni su bolesnici koji su u razdoblju od početka 2005. do kraja 2011. godine operirani zbog adenoma hipofize. U istraživanje je uključeno 94 bolesnika s funkcionalnim i nefunkcionalnim adenomom hipofize čiji uzorak tkiva je bio dostupan i tehnički prikladan za analizu te čiji je klinički tijek praćen najmanje pet godina u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb.

Slično kao i u drugim studijama (65), naši su ispitanici u podjednakom broju imali funkcionalne (43,6%) i nefunkcionalne adenome (56,4%). Većina je imala makroadenom (92,6%) što je očekivano budući da nefunkcionalne mikroadenome nije potrebno operirati već samo pratiti. Nefunkcionalni adenomi su bili veći u usporedbi s funkcionalnim adenomima (p=0,001), što je usporedivo s rezultatima Jaffaran-Rea i sur. (62). Funkcionalni adenomi su bili češći u mlađoj životnoj dobi (<40 godina).

Najčešće primjenjivana metoda liječenja je bila transsfenoidna ablacija adenoma. Nakon tog zahvata kod većine bolesnika je zaostao rezidualni adenom dok manjina bolesnika (36,2%) nije imala reziduu. Rezultati naše serije bolesnika su podudarni s rezultatima dijela autora (90, 100, 101), iako je u serijama nekih drugih autora manji udio bolesnika imao postoperativnu reziduu (105, 112). Moguće je da je ova razlika posljedica nehomogene skupine naših bolesnika i relativno velikog broja bolesnika s invazivnim adenomima koje nije bilo moguće odstraniti u cijelosti (63%).

Najveći broj operiranih funkcionalnih adenoma su činili somatotropinomi. Nesrazmjerno je veliki postotak operiranih bolesnika s prolaktinomom (29,3%), što je djelomično usporedivo s drugim istraživanjima (79, 93) i može se objasniti činjenicom da su ovi bolesnici ranijih godina češće upućivani na operativni zahvat, a tek je kasnije primjenjivana medikamentna terapija. Današnja je klinička praksa da se bolesnici upućuju na operaciju prolaktinoma samo u slučajevima rezistentnim na medikamentnu terapiju (u kasnije objavljenim serijama oko 10-15% bolesnika s prolaktinomima upućuje se na operaciju) (65). Relativno je mali udio bolesnika s Cushingovom bolesti koji su uključeni u ovo istraživanje (14,6%) što nije odraz ukupnog broja bolesnika s Cushingovom bolešću koji su u istraživanom period bili upućeni na operaciju. Naime, u istraživanje su uključeni samo oni bolesnici kod kojih je postojao adekvatan uzorak

tkiva adenoma za histološku analizu. Kod bolesnika s Cushingovom bolesti, često zbog malih dimenzija adenoma, uzorak tkiva nije bilo moguće analizirati, što je sukladno ranijim istraživanjima (92). Zanimljivo je da je šest bolesnika (9,8%) imalo *„silent“* ACTH adenom, što je otprilike dvostruko više od francuske grupe (79). Skupinu tzv. *„silent“* ACTH adenoma važno izdvojiti jer se pokazalo da bolesnici s ovim imunohistokemijskim tipom imaju nepovoljniji klinički tijek. U ovom istraživanju pet bolesnika sa *„silent“* ACTH adenomom je imalo invazivan tumor (uključujući i invaziju kavernoznog sinusa), svi su imali rezidualni adenom, od čega je kod dva bolesnika rezidua rasla tijekom praćenja.

Nakon inicijalnog kirurškog zahvata u ovom istraživanju je kod 67% bolesnika primijenjena druga linija terapije s ciljem smanjenja veličine rezidue tumora i/ili pak biokemijske kontrole bolesti kod funkcionalnih adenoma. Drugu liniju terapije čine ponovni neurokirurški zahvat, radioterapija te medikamentna terapija koja je uključivala dopaminske agoniste, analoge somatostatinskih receptora, temozolomid, ketokonazol i pegvizomant. Uz navedenu terapiju u 32,9% naših bolesnika na zadnjem pregledu nije bilo rezidualnog tumora, što je manje u usporedbi s rezultatima na 410 bolesnika od Trouillas i sur. (79). Među bolesnicima s reziduom adenoma koja je ostala prisutna i nakon primjene svih modaliteta liječenja, kod 76,2% rezidua je na zadnjoj kontroli bila stacionarne veličine, dok je kod 23,8% naših bolesnika rezidua rasla ili su imali recidiv nakon potpunog odstranjenja adenoma. U drugim istraživanjima iz literature primijećen je veći udio rastućih rezidualnih adenoma (79, 99, 100, 101, 105, 111). Razlog može biti taj što je relativno veliki broj naših bolesnika s reziduom upućen na zračenje (58,7%), što čini 39,4% od ukupnog broja bolesnika u ovom istraživanju. Većina naših bolesnika s rezidualnim adenomom je upućena na stereotaksijsku radiokirurgiju gamma nožem (53,9%), nakon čega je kod tri bolesnika rezidua rasla - kod jednog bolesnika nakon dvije godine, kod jedne bolesnice nakon tri godine te kod jednog bolesnika nakon devet godina. Navedeni podatak ukazuje na potrebu dugotrajnog praćenja bolesnika s adenomom hipofize nakon provedenog liječenja.

Što se tiče pituitarne funkcije, ukupno 22,3% bolesnika je prije operacije imalo urednu funkciju adenohipofize, a nakon svih provedenih modaliteta liječenja ona je bila uredna kod 36,2% bolesnika. Razmjerno velik broj bolesnika je imao poboljšanje funkcije hipofize nakon operacije, što ukazuje na povoljan učinak kirurškog liječenja na oporavak pituitarne funkcije. Moguće je da će u dugotrajnijem praćenju doći do

poremećaja funkcije hipofize kao mogući kasni učinak radiokirurgije zbog čega je ove bolesnike potrebno pratiti.

6.2. Ekspresija proliferacijskih markera Ki-67, p53 i mitotska aktivnost u adenomima hipofize

Nova klasifikacija SZO iz 2017. godine (74) i ekspertni tim Europskog endokrinološkog društva (81) savjetuju određivanje ekspresije Ki-67 u svim adenomima hipofize i ekspresije p53 u odabranim slučajevima. Ovim istraživanjem je nađena sveukupno mala ekspresija proliferacijskog markera Ki-67 u većini adenoma hipofize (medijan 1%, raspon 0-20%), što je sukladno rezultatima istraživanja drugih autora (58, 65, 69). Poznato je da samo sporadičan broj bolesnika ima značajno veću ekspresiju ovog markera, što smo potvrdili i u ovom istraživanju u kojem je ekspresiju Ki-67 <3% imalo 74,5% bolesnika. Značajno veću ekspresiju (20%) je imala samo jedna bolesnica s recidivirajućim agresivnim kortikotropinomom. U ovom istraživanju 26,1% bolesnika je imalo pozitivnu ekspresiju p53, što je više u usporedbi s rezultatima dijela drugih autora (69, 78, 104, 108). Razlog za veću ekspresiju je najvjerojatnije razlika u metodologiji, jer su neki autori također pokazali sličnu ekspresiju p53 kao u našem ispitivanju (109). Ranijih godina su bile u upotrebi starije generacije antitijela na p53 manje senzitivnosti. Neki autori su, za razliku od nas, analizirali homogenu skupinu bolesnika po pitanju invazivnosti te samo određene podtipove funkcionalnih adenoma. Razlika je i u načinu određivanja pozitivne ekspresije p53. Dok neki autori (78) za pozitivnu ekspresiju p53 smatraju samo adenome u kojima je akumulacija reaktivnog produkta u stanicama jako izražena, drugi su (109), kao i u ovom istraživanju, za pozitivne smatrali sve stanice koje su pokazivale različite raspone akumulacije reaktivnog produkta i različite postotke pozitivnih stanica u uzorku adenoma. Za sada ne postoji metodološki standard po kojem se određuje ekspresija p53 i u većini istraživanja i klasifikacija se navodi kao definicija samo izraz „pozitivna ekspresija“. Potrebna su dodatna istraživanja prema jedinstvenim kriterijima i na većim skupinama bolesnika da se razjasni ekspresija i uloga p53 u kliničkom ponašanju adenoma hipofize. Većina adenoma u ovom istraživanju nije imala izraženu mitotsku aktivnost što je dobro poznato za adenome hipofize.

Podjelom na funkcionalne i nefunkcionalne adenome nađena je veća ekspresija Ki-67 kod bolesnika s funkcionalnim adenomom, što su ranije pokazali drugi autori (58, 62, 92, 93), osobito kod bolesnika koji prije operacije nisu liječeni medikamentnom terapijom (62). Ipak, dio istraživača nije pokazao korelaciju ekspresije histoloških markera i funkcionalnosti adenoma (94, 95).

U istraživanju Thapar i sur. je prvi put pokazano da je prijelomna vrijednost Ki-67 ≥3% mjerodavna za razlikovanje invazivnih i neinvazivnih adenoma hipofize, sa specifičnošću 97% i senzitivnošću 73% (78). Ovu prijelomnu vrijednost koja karakterizira invazivne adenome hipofize su kasnije potvrdili mnogi autori (65). Upravo iz tog razloga je i uvrštena kao kriterij za atipične adenome u klasifikaciju SZO iz 2004. godine (54) i kliničko-patološku klasifikaciju Trouillas i sur. (79). Međutim, posebno su zanimljiva kasnija istraživanja koja su ispitivala koja prijelomna vrijednost Ki-67 je značajna za progresiju rezidue i/ili recidiv adenoma. Ovo je osobito važno s kliničkog gledišta jer nam pomaže u prepoznavanju onih bolesnika čiji adenom ima klinički agresivnu prirodu te koji zahtijeva ranu primjenu različitih metoda liječenja. U ovom području još nema konsenzusa. Dok su neki autori potvrdili prijelomnu vrijednost 3% kao značajnu, drugi su pokazali različite prijelomne vrijednosti za svoje populacije: 1,3%, 1,5%, 2%, 3% (69, 80, 103, 110). U ovom istraživanju je kod prijelomne vrijednosti Ki-67 ≥3% nađena značajna razlika u vremenu do progresije rezidue odnosno pojave recidiva adenoma (p=0,007). Righi i sur. su pokazali da se prijelomne vrijednosti Ki-67 razlikuju ovisno o funkcionalnosti adenoma (1,7% za kortikotropinom, 1,94% za *"null-cell"* adenom te 4,4% za prolaktinom), no prema njihovim rezultatima Ki-67 >3% ima nisku senzitivnost za progresiju rezidue i pojavu recidiva (103). Nedostatak našeg istraživanja je što nismo mogli učiniti analizu ekspresije Ki-67 ovisno o funkcionalnosti adenoma zbog malog uzorka bolesnika u pojedinim skupinama. Jedino multicentričnim istraživanjem bi se mogla premostiti manjkavost malog uzorka bolesnika u ovakvoj vrsti analize.

Povezanost ekspresije proliferacijskog markera p53 i kliničkog ponašanja adenoma hipofize je značajno manje istražena, objavljena je samo nekolicina istraživanja. Za sada se p53 upotrebljava samo u kombinaciji s Ki-67. Thapar i sur. su prvi demonstrirali značajnu povezanost između ekspresije ovog markera i agresivnijeg ponašanja adenoma hipofize (78), što su kasnije potvrdili neki autori (72, 108). Analiza vremena do progresije veličine rezidue odnosno pojave recidiva kod naših bolesnika

nije pokazala statistički značajnu razliku ovisno o prisutnoj ekspresiji proliferacijskog markera p53 (p=0,278) i mitotskoj aktivnosti (p=0,141).

Nekonzistentnosti u objavljenim istraživanjima o ekspresiji proliferacijskih markera su posljedica heterogenosti i većinom retrospektivne prirode studija, različitih definicija invazivnosti i agresivnosti tumora, različitih definicija progresije rezidue i recidiva te upotrebe različitih metoda za analizu proliferacijskih markera.

6.2.1. Ekspresija proliferacijskih markera i invazivnost adenoma hipofize

Jedna od najvećih vrijednost ovog istraživanja je ta što je prvi put analiziran klinički tijek bolesnika s funkcionalnim i nefunkcionalnim adenomima hipofize nakon neurokirurškog zahvata u našoj populaciji. Adenomi hipofize često invadiraju okolne strukture, prije svega sfenoidni i kavernozni sinus što ima važne kliničke implikacije u pogledu potrebe za pomnijim praćenjem bolesnika i ranom primjenom različitih metoda liječenja. Za adenom hipofize ne možemo reći da je agresivan samo na temelju invazivnosti no ona je jedan od osnovnih prediktora nepotpunog odstranjenja adenoma što za posljedicu ima potencijalni rast ostatnog adenoma. Dosadašnja istraživanja su pokazala da je kod bolesnika s agresivnijim adenomom potrebno pomno praćenje te da o tome ovisni rana primjena dodatnih modaliteta liječenja budući da je kod ovih bolesnika povećan morbiditet i mortalitet (81).

Prema rezultatima ovog istraživanja, 63% bolesnika je imalo invazivni adenom, što uz neke izuzetke (62, 99), predstavlja veliki postotak u usporedbi s drugim istraživačima (64, 69, 93, 95). Ovo možemo objasniti činjenicom da su u našu visoko specijaliziranu ustanovu upućeni bolesnici s velikim adenomima, ali i činjenicom da nismo imali podatke o invaziji za sve bolesnike (86,2% ukupnog broja) te je moguće da je ovaj broj precijenjen. Invazivnost adenoma prema literaturnim podacima značajno varira (40-95%), prije svega zbog nekonzistentne definicije (62). Dio autora kao definiciju koriste mikroskopsku invaziju dure ili intraoperativni dojam neurokirurga, dok drugi kao kriterij koriste specifične klasifikacije predviđene za radiološku evaluaciju (6) ili pojednostavljene verzije ovih klasifikacija, kao što je slučaj u ovom istraživanju.

Invazivni adenomi hipofize su u ovom istraživanju bili češći kod muškaraca (p=0,009) i kod adenoma većeg promjera (p<0,001). Iako su mnoga istraživanja pokazala pozitivnu korelaciju između Ki-67 i invazivnosti adenoma (58, 62, 78, 93, 95),

u ovom istraživanju to nismo potvrdili. Nisu niti sva istraživanja u literaturi potvrdila povećanu ekspresiju ovih proliferacijskih markera u invazivnim adenomima (96, 97, 98). Bolesnici s invazivnim adenomom su u ovom istraživanju imali značajno češće rezidualni tumor nakon operacije (p=0,002) što je očekivano s obzirom na nemogućnost potpunog odstranjenja takvih adenoma neurokirurškim zahvatom.

6.3. Kliničko ponašanje adenoma hipofize s obzirom na postoperativni status

Budući da adenomi hipofize spadaju u skupinu tumora koji vrlo rijetko metastaziraju u udaljene organe, jedini kriterij za praćenje predstavlja status i evaluacija rezidualnog adenoma. Naše dosadašnje znanje o svim čimbenicima koji utječu na invazivnost, rast rezidualnog adenoma i recidiv je manjkavo. Odluka da bolesnike podijelimo u skupine ovisno o kliničkom ponašanju rezidualnog adenoma nakon operacije temeljena je na saznanju da se upravo time vodimo pri odlučivanju o ranoj primjeni dodatne terapije i optimalnom kliničkom i radiološkom praćenju. U ovom istraživanju smo kao agresivne definirali one adenome čija je rezidua rasla tijekom razdoblja praćenja ili su imali recidiv nakon potpunog odstranjenja, a kao neagresivne one adenome čija je rezidua bila stabilna tijekom razdoblja praćenja. Ovim istraživanjem je nađena pozitivna korelacija između ekspresije proliferacijskog markera Ki-67 i porasta rezidualnog adenoma ili recidiva nakon potpunog odstranjenja (p<0,001). Naši rezultati su sukladni izvještajima nekih autora (64, 69, 103), iako dio autora nije pokazao ovu povezanost (62, 65, 102). Analiza ekspresije p53 i mitotske aktivnosti nije pokazala korelaciju s porastom rezidue i pojavom recidiva (p=0,201 i p=0,26).

Usporedbom bolesnika sa stabilnom i rastućom reziduom i onih bez rezidue u ovom istraživanju je nađena veća ekspresija proliferacijskog markera Ki-67 u skupini bolesnika s reziduom (p=0,009). U ovoj skupini bolesnika su adenomi bili veći (p<0,001) i invazivniji (p=0,002). Rezidua adenoma je bila češće prisutna kod muškaraca i nefunkcionalnih adenoma, a navedena razlika je bila na granici statističke značajnosti (p=0,064 i p=0,051). Drugi autori su također pokazali povezanost veličine i invazivnosti adenoma s postojanjem rezidualnog adenoma na zadnjoj kontroli (79, 106, 107, 110) iako neki od njih nisu pokazali povezanost rezidue sa spolom i funkcionalnošću adenoma (79). Dodatna analiza je pokazala da veličina adenoma ima prognostičku važnost za postojanje rezidue nakon operativnog zahvata (p=0,027).

Kada smo izdvojili bolesnike s rastućom reziduom i recidivom i usporedili ih sa svim ostalim bolesnicima, pokazalo se da oni kod kojih je rezidua rasla ili su imali recidiv su također imali i veću ekspresiju Ki-67 ($p<0,001$). Ovo je sukladno rezultatima Paek i sur. (64) te Righi i sur. na većem broju bolesnika (103). Skupina bolesnika s rastućom reziduom i recidivom je imala i veći promjer adenoma ($p=0,045$). Također, ovi su bolesnici bili mlađi, iako razlika nije dosegnula razinu statističke značajnosti ($p=0,071$), što je pokazano u ranijim istraživanjima na nefunkcionalnim adenomima i gonadotropinomima neovisno (52, 61, 102, 105). Usporedbom bolesnika sa stabilnom reziduom i onih kojima je rezidua rasla ili su imali recidiv tijekom razdoblja praćenja, nađeno je da bolesnici sa stabilnom reziduom imaju značajno manji Ki-67 ($p=0,005$).

Budući da su dotadašnja istraživanja o kliničkom ponašanju adenoma hipofize bila kontradiktorna i nekonzistentna, Trouillas i sur. su na temelju multicentričnog istraživanja u Francuskoj na 410 bolesnika u 2013. godini predložili novu kliničko–patohistološku klasifikaciju adenoma hipofize koja objedinjuje imunohistokemijski podtip adenoma, proliferacijsku aktivnost (na temelju mitotske aktivnosti i ekspresije proliferacijskih markera Ki-67 i p53) te radiološki verificiranu proširenost, odnosno invazivnost adenoma (79). Podijelili su bolesnike u pet skupina i analizirali prognostičku vrijednost klasifikacije. U njihovom istraživanju većina bolesnika je imala neinvazivan i neproliferativan adenom (stadij 1a). Kada smo naše bolesnike podijelili prema ovoj klasifikaciji pokazalo se da većina ima invazivan i neproliferativan adenom (stadij 2a), što se ne podudara s originalnim istraživanjem, najvjerojatnije zbog većeg broja invazivnih adenoma u našem istraživanju (63% vs. 42,7%), no moguće i jer je u ovom istraživanju analiza bila učinjena samo kod bolesnika kod kojih su bili dostupni svi podaci (86,2%). Kada smo naše bolesnike podijelili u graduse prema gore navedenoj klasifikaciji, pokazalo se da postoji značajna razlika u gradusima između bolesnika s reziduom i bez rezidualnog adenoma ($p=0,016$). Koliko nam je poznato, do sada nitko nije učinio analizu svojih bolesnika prema ovoj klasifikaciji. Trouillas i sur. su pokazali da podjela prema njihovoj klasifikaciji ima signifikantnu prognostičku i prediktivnu vrijednost za recidiv ili progresiju rezidualnog adenoma nakon operacije te da adenom gradusa 2b ima 25 puta veću šansu za progresiju rezidue i 12 puta veću šansu za recidiv u usporedbi s adenomom gradusa 1a. Sukladno njihovom istraživanju, možemo zaključiti da 28 (33,7%) naših bolesnika s gradusom 1a nije rizično za progresiju rezidue ili recidiv, dok je dvoje bolesnika sa gradusom 2b potrebno

pomno pratiti. U ovom istraživanju nismo potvrdili prognostičku vrijednost klasifikacije prema Trouillas i sur., no za napomenuti je značajno manji broj bolesnika u našem nego u originalnom istraživanju (81 vs. 410). Zanimljivo je da je 6 bolesnika s adenomom gradusa 2b u originalnom istraživanju tijekom praćenja prešlo u karcinom, dok u našem istraživanju nitko nije imao metastatsku bolest.

6.4. Atipični adenom

Posebno su zanimljivi adenomi koji se u klasifikaciji SZO iz 2004. godine opisuju kao granični adenomi nepoznatog malignog potencijala. Radi se o adenomima koji imaju atipične morfološke karakteristike koje ukazuju na potencijalno agresivno ponašanje u smislu invazivnog rasta te određene histološke karakteristike: mitotska aktivnost, pozitivna ekspresija p53 i Ki-67 ≥3%. Ovi adenomi se nazivaju atipičnim, a izdvojeni su u tadašnjoj klasifikaciji jer se su neki autori pokazali da imaju lošiju prognozu zbog invazivnosti, veličine i brzine rasta te nemogućnosti potpunog neurokirurškog odstranjenja (55).

Šest bolesnika (6,4%) u ovom istraživanju je zadovoljilo kriterije za atipični adenom hipofize, što je u usporedbi s učestalošću atipičnih adenoma iz Njemačkog registra tumora hipofize (2,7%) otprilike dvostruko više (84), no usporedivo je s rezultatima drugih istraživača (85). Iz naših te rezultata drugih autora vidljivo je da se radi o rijetkom podtipu adenoma hipofize, iako je zanimljivo da su neki autori pokazali gotovo dvostruko veću učestalost (74). Kao i u drugim istraživanjima, u našem istraživanju većina bolesnika s atipičnim adenomom je imala makroadenom (samo jedna bolesnica je imala mikroadenom), kod dvoje bolesnika radilo se o invazivnom adenomu. Neki istraživači su primijetili veću učestalost relapsa atipičnih adenoma (86), što nije potvrđeno u našem istraživanju niti kod jednog bolesnika, iako moramo napomenuti da se radilo o malom uzorku. Iako su u drugim istraživanjima atipični adenomi podjednako bili funkcionalni i nefunkcionalni, kod svih naših bolesnika se radilo o funkcionalnom adenomu. Zanimljivo je da kod bolesnice koja je imala najveći Ki-67 (20%) tumor inicijalno nije bio radiološki invazivan, ali je nakon relapsa bila potrebna ponovna operacija, konvencionalna radioterapija i medikamentno liječenje uključujući temozolomid. Kod svih naših bolesnika s atipičnim adenomima bolest je na zadnjem pregledu bila u remisiji.

U međuvremenu je objavljena nova klasifikacija tumora hipofize SZO početkom 2017. godine. Iako još nije u širokoj upotrebi, ova klasifikacija unosi kontroverze jer preporučuje ukidanje naziva atipični adenom i umjesto njega predlaže naziv klinički agresivan tumor budući da je pokazano da je u većini adenoma hipofize ekspresija Ki-67 <3%, što je slučaj i s većinom naših bolesnika (74,5%). Razlog promjene u terminologiji je činjenica da se međuvremenu, od izlaska prethodne klasifikacije SZO, pokazalo da tek vrlo visoka ekspresija Ki-67 (>20-30%) ima prediktivno značenje u smislu progresije adenoma u vrlo agresivni adenom i karcinom (87, 88, 89). U ovom istraživanju, samo jedna bolesnica s Cushingovom bolesti je imala vrlo visok Ki-67 (20%). Radilo se o spomenutoj bolesnici s agresivnim recidivirajućim kortikotropinomom kod koje je provedeno više linija liječenja. Bit će zanimljivo vidjeti kakve će kliničke implikacije imati ove promjene u klasifikaciji adenoma hipofize.

Iako je ovo istraživanje obuhvatilo bolesnike operirane u našoj ustanovi u razdoblju od sedam godina, učinjena je analiza heterogene skupine bolesnika s funkcionalnim i nefunkcionalnim adenomima te je zbog toga uzorak u pojedinim analiziranim grupama mali. Vrijednost ovog istraživanja je u činjenici da su svi uključeni bolesnici praćeni najmanje pet godina te nisu uvršteni bolesnici koji su praćeni kraće. Kada smo usporedili ove dvije skupine pokazalo se da su u skupini dulje praćenih bolesnika češće bili muškarci, bolesnici s funkcionalnim adenomom i većom ekspresijom p53. Upravo zbog toga su potrebna prospektivna istraživanja o kliničkom ponašanju adenoma hipofize na većem uzroku i s duljim praćenjem koja bi mogla dodatno razjasniti nedoumice u ovom području.

Sukladno rezultatima ovog istraživanja možemo reći da većina bolesnika nakon operacije adenoma hipofize ima rezidualni adenom koji ima povoljan klinički tijek i ne raste. Bolesnike s većim adenomom hipofize i većom ekspresijom proliferacijskog markera Ki-67 u uzorku tkiva treba pomno pratiti jer imaju povećanu šansu za progresiju rezidualnog adenoma ili pojavu recidiva nakon potpunog odstranjenja.

7. ZAKLJUČCI

1. U većine bolesnika (63,8%) kod kojih je indicirano kirurško liječenje adenoma hipofize nije moguće učiniti kompletnu resekciju te postoperativno zaostaje rezidualni adenom. Kod manjine bolesnika s rezidualnim adenomom (12/60 bolesnika, 20%) tijekom praćenja dolazi do porasta veličine rezidualnog adenoma. Kod bolesnika kojima je učinjena kompletna resekcija adenoma tijekom petogodišnjeg praćenja vrlo se rijetko (3/34 bolesnika, 8,8%) javljaju recidivi adenoma.

2. Ekspresija proliferacijskog markera Ki-67 u adenomu hipofize pozitivno korelira s pojavom recidiva adenoma kao i s porastom veličine rezidualnog adenoma. S druge strane, ekspresija histološkog markera p53 kao i mitotska aktivnost u tkivu adenoma ne koreliraju s pojavom recidiva niti s porastom rezidualnog adenoma.

3. U većine adenoma hipofize (74,5%) ekspresija Ki-67 je manja od 3%. Manjina adenoma hipofize (26,1%) pokazuje pozitivitet na p53, a mitotska je aktivnost vidljiva u 9,6% adenoma. Ekspresija Ki-67 je značajno veća u funkcionalnim nego u nefunkcionalnim adenomima.

4. Veličina adenoma je jedina klinička varijabla koja ima prognostičku vrijednost za ostanak rezidue adenoma.

8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je ispitivanje ekspresije histoloških markera Ki-67, p53 i mitotske aktivnosti u adenomima hipofize te njihova korelacija s učestalošću recidiva odnosno progresije veličine ostatnog adenoma. Dodatni cilj bio je analiza kliničkog tijeka nakon operativnog liječenja tih bolesnika u razdoblju od pet godina te analiza proliferacijskih markera ovisno o tipu i kliničkom ponašanju adenoma hipofize. U istraživanje je uključeno 94 bolesnika operiranih zbog adenoma hipofize u razdoblju od 2005. do 2011. godine koji su praćeni najmanje pet godina u Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb. Neurokirurškim zahvatom u 63,8% bolesnika nije bilo moguće odstraniti adenom u cijelosti i zaostaje rezidua. Kod manjine bolesnika s rezidualnim adenomom (12/60 bolesnika, 20%) došlo je do porasta veličine rezidue. Kod bolesnika kojima je adenom ostranjen u cjelosti vrlo rijetko su se tijekom petogodišnjeg praćenja javljali recidivi (3/34 bolesnika, 8,8%). Pokazano je da veličina adenoma ima prognostičku važnost za postojanje rezidue nakon operativnog zahvata ($p=0,027$). U većine adenoma hipofize (74,5%) ekspresija Ki-67 je bila manja od 3%. Manjina adenoma hipofize (26,1%) pokazivala je pozitivitet na p53, a mitotska je aktivnost bila vidljiva u 9,6% adenoma. Funkcionalni adenomi hipofize imali su značajno veću ekspresiju proliferacijskog markera Ki-67 u usporedbi s nefunkcionalnim adenomima ($p=0,012$). Ekspresija proliferacijskog markera Ki-67 u adenomu hipofize je pozitivno korelirala s pojavom recidiva adenoma kao i s porastom veličine rezidualnog adenoma ($p<0,001$). S druge strane, ekspresija histološkog markera p53 kao i mitotska aktivnost u tkivu adenoma nisu korelirale s pojavom recidiva niti s porastom rezidualnog adenoma ($p=0,201$ i $p=0,26$). U ovom istraživanju je pokazano da kod prijelomne vrijednosti Ki-67 ≥3% postoji razlika u vremenu do progresije rezidue odnosno pojave recidiva adenoma ($p=0,007$). Svi bolesnici s rezidualnim adenomom, neovisno o kliničkom tijeku rezidue, su tijekom praćenja imali značajno veću ekspresiju proliferacijskog markera Ki-67 u usporedbi s bolesnicima bez rezidue ($p=0,009$). Bolesnici s reziduom su imali značajno veći i invazivniji adenom ($p<0,001$ i $p=0,002$). U bolesnika kod kojih je došlo do porasta rezidualnog adenoma ili se pojavio recidiv tijekom praćenja, ekspresija Ki-67 je bila veća nego kod bolesnika sa stabilnom reziduom i bez rezidue ($p<0,001$). Bolesnici s rastućom reziduom i recidivom adenoma su pri postavljanju dijagnoze imali značajno veći adenom

(p=0,045). Ovi bolesnici su, također, imali veću ekspresiju Ki-67 u usporedbi samo s bolesnicima sa stabilnim rezidualnim adenomom (p=0,005). Na temelju ovog istraživanja možemo zaključiti da bolesnike s većim adenomom hipofize i većom ekspresijom proliferacijskog markera Ki-67 treba pomnije pratiti jer imaju povećanu šansu za progresiju rezidualnog adenoma ili pojavu recidiva nakon kompletnog odstranjenja.

Ključne riječi: adenom hipofize, proliferacija, proliferacijski markeri, invazivnost, Ki-67, p53, mitotska aktivnost

9. SUMMARY

Predictors of clinical behavior of pituitary adenomas

Mirsala Solak, 2017

The aim of this study was to investigate the expression of histological markers Ki-67, p53 and mitotic activity in pituitary adenomas and their correlation with the frequency of recurrence and progression of residual adenoma. Additional purpose of the study was the analysis of clinical course after operative treatment for a period of at least five years, and analysis of proliferative markers depending on the type and clinical behavior of pituitary adenoma. The study comprised 94 patients operated due to pituitary adenoma in the period from 2005 to 2011, who were treated at the Department of Endocrinology, University Hospital Center Zagreb. After the operation, 63.8% of patients had residual adenoma. In the minority of patients (12/60 patients, 20%) with residual adenoma we detected increase in size. In patients with complete adenoma resection, only few patienst had recurrence (3/34 patients, 8.8%). The analysis showed that the adenoma size had a significant prognostic value for residual tumor (p=0.027). In majority of adenoma samples (74.5%) expression of Ki-67 was less than 3%, 26.1% had positive p53 while only 9.6% had mitotic activity. Functional adenomas had significantly higher expression of Ki-67 compared to nonfunctional adenomas (p=0.012). The expression of the Ki-67 in the pituitary adenoma correlated positively with the recurrence of adenoma as well as the increase in residual adenoma (p<0.001). On the other hand, the expression of p53 and mitotic activity in adenoma tissue did not correlate with the recurrence or increase of residual adenoma (p=0.201 and p=0.26, respectively). Cut-off value of Ki-67 ≥3% was significant for the time of residual adenoma progression or adenoma recurrence after complete removal (p=0.007). All patients with residual adenoma, regardless of the clinical outcome, had a significantly higher expression of Ki-67 compared to patients without residue (p=0.009). Patients with residual adenomas had significantly larger and more invasive adenomas (p<0.001 and p=0.002, respectively). In patients with enlargement of residual adenoma or recurrence after complete removal, the expression of Ki-67 was higher compared to patients with stable residue or complete adenoma removal (p<0.001). Patients with

increased residue size and recurrent adenomas had significantly larger initial size of the adenoma (p=0.045). Moreover, these patients had higher expression of Ki-67 compared only to the group of patients with stable residue (p=0.005). Based on this study we can conclude that patients with larger adenoma size and higher expression of proliferative marker Ki-67 should be monitored more closely because they have an increased chance of progression of residual adenoma or recurrence after complete removal.

Key words: pituitary adenoma, proliferation, proliferative markers, invasiveness, Ki-67, p53, mitotic activity

10. LITERATURA

1. Javorsky BR, Aron DC, Findling JW, Tyrrel JB. Hypothalamus and Pituitary Gland. U: Gardner DG, Shoback D, ur. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology, 9th Edition. The McGraw-Hill Companies Inc; 2011. str. 64-71.
2. Asa SL. Practical pituitary pathology: what does the pathologist need to know? Arch Pathol Lab Med. 2008;132:1231-40.
3. Daly AF, Rixhon M, Adam C, Dempegioti A, Tichomirowa MA, Beckers A. High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91:4769-75.
4. Fernandez A, Karavitaki N, Wass JA. Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). Clin Endocrinol (Oxf). 2010;72:377-82.
5. Mete O, Ezzat S, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. J Mol Endocrinol. 2012;49:69-78.
6. Di Ieva A, Rotondo F, Syro LV, Cusimano MD, Kovacs K. Aggressive pituitary adenomas-diagnosis and emerging treatments. Nat Rev Endocrinol. 2014;10:423-35.
7. Thapar K, Kovacs K, Muller P. Clinical-pathologic correlations of pituitary tumors. Baillieres Clin Endocrinol Metab. 1995;9:243-270.
8. Asa SL, Casar-Borota O, Chanson P, Delgrange E, Earls P, Ezzat S i sur. From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): an International Pituitary Pathology Club proposal. Endocr Relat Cancer. 2017;24:C5-C8.
9. Davis FG, Kupelian V, Freels S, McCarthy B, Surawicz T. Prevalence estimates for primary brain tumors in the United States by behavior and major histology groups. Neuro-oncol. 2001;3:152–158.
10. Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML i sur. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. Cancer. 2004;101:613-9.
11. Teramoto A, Hirakawa K, Sanno N, Osamura Y. Incidental pituitary lesions in 1,000 unselected autopsy specimens. Radiology. 1994;193:161–164.
12. Uei Y, Kanzaki M, Yabana T. Incidental adenomas of the human pituitary gland. Endocrine Pathology. 1994;5:90–99.

13. Clayton RN. Sporadic pituitary tumours: from epidemiology to use of databases. Baillieres Best Practice & Research. Clinical Endocrinology and Metabolism. 1999;13:451–460.
14. Kaštelan D, Koršić M. High prevalence rate of pituitary incidentaloma: is it associated with the age-related decline of the sex hormone levels. Med Hypotheses. 2007;69:307-9.
15. McDowell BD, Wallace RB, Carnahan RM, Chrischilles EA, Lynch CF, Schlechtte JA. Demographic differences in incidence for pituitary adenoma. Pituitary. 2011;14: 23–30.
16. Aflorei ED, Korbonits M. Epidemiology and etiopathogenesis of pituitary adenomas. Journal of Neuro-Oncology. 2014;117:379-394.
17. Mindermann T, Wilson CB. Age-related and gender-related occurrence of pituitary adenomas. Clin Endocrinol (Oxf). 1994;41:359–364.
18. Heshmat MY, Kovi J, Simpson C, Kennedy J, Fan KJ. Neoplasms of the central nervous system: incidence and population selectivity in the Washington DC, metropolitan area. Cancer. 1976;38:2135-42.
19. Olsson DS, Nilsson AG, Bryngelsson IL, Trimpou P, Johannsson G, Andersson E. Excess Mortality in women and young adults with nonfunctioning pituitary adenoma: A Swedish Nationwide Study. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100:2651-8.
20. Ntali G, Capatina C, Fazal-Sanderson V, Byrne JV, Cudlip S, Grossman AB i sur. Mortality in patients with non-functioning pituitary adenoma is increased: systematic analysis of 546 cases with long follow-up. Eur J Endocrinol. 2016;174:137-45.
21. Herman V, Fagin J, Gonsky R, Kovacs K, Melmed S. Clonal origin of pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab. 1990;71:1427-33.
22. Gleiberman AS, Michurina T, Encinas JM, Roig JL, Krasnov P, Balordi F i sur. Genetic approaches identify adult pituitary stem cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:6332–6337.
23. Asa SL, Ezzat S. The pathogenesis of pituitary tumors. Annu Rev Pathol. 2009;4:97–126.
24. Melmed, S. Mechanisms for pituitary tumorigenesis: the plastic pituitary. J Clin Invest. 2003;112:1603–1618.

25. Esposito D, Trimpou P, Giugliano D, Dehlin M, Ragnarsson O. Pituitary dysfunction in granulomatosis with polyangiitis. Pituitary. 2017;20:594-601.
26. Cooper O, Ben-Shlomo A, Bonert V, Bannykh S, Mirocha J, Melmed S. Silent corticogonadotroph adenomas: clinical and cellular characteristics and long-term outcomes. Horm Cancer. 2010;1:80-92.
27. Ciccarelli A, Daly AF, Beckers A. The epidemiology of prolactinomas. Pituitary. 2005;8:3-6.
28. Cuny T, Pertuit M, Sahnoun-Fathallah M, Daly A, Occhi G, Odou MF i sur. Genetic analysis in young patients with sporadic pituitary macroadenomas: besides AIP don't forget MEN1 genetic analysis. Eur J Endocrinol. 2013;168:533-41.
29. Batrinos ML, Panitsa-Faflia C, Tsiganou E, Liapi C. Incidence and characteristics of microprolactinomas (3-5 mm) in 4199 women assayed for prolactin. Horm Metab Res. 1992;24:384-91.
30. Colao A, Sarno AD, Cappabianca P, Briganti F, Pivonello R, Somma CD i sur. Gender differences in the prevalence, clinical features and response to cabergoline in hyperprolactinemia. Eur J Endocrinol. 2003;148:325-31.
31. Buurman H, Saeger W. Subclinical adenomas in postmortem pituitaries: classification and correlations to clinical data. Eur J Endocrinol. 2006;154:753-8.
32. Gürlek A, Karavitaki N, Ansorge O, Wass JA. What are the markers of aggressiveness in prolactinomas? Changes in cell biology, extracellular matrix components, angiogenesis and genetics. Eur J Endocrinol. 2007;156:143-53.
33. Seltzer J, Carmichael JD, Commins D, Liu CS, Omura E, Chang E i sur. Prolactin secreting pituitary carcinoma with dural metastases: diagnosis, treatment, and future directions. World Neurosurg. 2016;94:767.
34. Kars M, Dekkers OM, Pereira AM Romijn JA. Update in prolactinomas. Neth J Med. 2010;68:104-112.
35. Molitch ME. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients. Pituitary. 2005;8:43-52.
36. Gillam MP, Molitch ME, Lombardi F, Colao A. Advances in the treatment of prolactinomas. Endocr Rev. 2006;27:485-534.

37. Sbardella E, Farah G, Fathelrahman A, Cudlip S, Ansorge O, Karavitaki N i sur. A macroprolactinoma becoming resistant to cabergoline and developing atypical pathology. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep. 2016;2016:16-0038.
38. Tina Dušek: Mineralna gustoća kosti i biljezi koštane pregradnje u bolesnika sa somatotropinomom (doktorska disertacija). Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu. 2010, str. 64.
39. Reid TJ, Post KD, Bruce JN, Kanibir MN, Reyes-Vidal CM, Freda PU. Features at diagnosis of 324 patients with acromegaly did not change from 1981. to 2006.: acromegaly remains under-recognized and under-diagnozed. Clin Endocrinol (Oxf). 2010;72:203-208.
40. Melmed S. Medical progress: acromegaly. N Engl J Med. 2006;355:2558-2573.
41. Dušek T, Kaštelan D, Melada A, Baretić M, Škorić Polovina T, Perković Z i sur. Clinical features and therapeutic outcomes of patients with acromegaly: single-center experience. J Clin Invest. 2011;62:79-92.
42. Katznelson L, Laws ER Jr, Melmed S, Molitch ME, Murad MH, Utz A i sur. Acromegaly: an endocrine society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99:3933-51.
43. Kaštelan D. Farmakoterapija somatotropinoma. U: Gnjidić Ž, Darko K, ur. Zbornik radova sa znanstvenog simpozija Akromegalija i gigantizam. Zagreb: HAZU Razred za medicinske znanosti; 2013, str. 214-216.
44. van der Lely AJ, Biller BM, Brue T, Buchfelder M, Ghigo E, Gomez R i sur. Long-term safety of pegvisomant in patients with acromegaly: comprehensive review of 1288 subjects in ACROSTUDY. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97:1589-97.
45. Biller BM, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J i sur. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93:2454-62.
46. Atkinson AB, Kennedy A, Wiggam MI, McCance DR, Sheridan B. Long-term remission rates after pituitary surgery for Cushing's disease: the need for long-term surveillance. Clin Endocrinol (Oxf). 2005;63:549-59.
47. Chee GH, Mathias DB, James RA, Kendall-Taylor P. Transsphenoidal pituitary surgery in Cushing's disease: can we predict outcome? Clin Endocrinol (Oxf). 2001;54:617-26.

48. Locatelli M, Vance ML, Laws ER. Clinical review: the strategy of immediate reoperation for transsphenoidal surgery for Cushing's disease. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:5478-82.
49. Colao A, Petersenn S, Newell-Price J, Findling JW, Gu F, Maldonado M i sur.; Pasireotide B2305 Study Group. A 12-month phase 3 study of pasireotide in Cushing's disease. N Engl J Med. 2012;366:914-24.
50. Lambert JK, Goldberg L, Fayngold S, Kostadinov J, Post KD, Geer EB. Predictors of mortality and long-term outcomes in treated Cushing's disease: a study of 346 patients. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98:1022-30.
51. Honegger J, Schmalisch K, Beuschlein F, Kaufmann S, Schnauder G, Naegele T i sur. Contemporary microsurgical concept for the treatment of Cushing's disease: endocrine outcome in 83 consecutive patients. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;76:560-7.
52. Reddy R, Cudlip S, Byrne JV, Karavitaki N, Wass JA. Can we ever stop imaging in surgically treated and radiotherapy-naive patients with non-functioning pituitary adenoma? Eur J Endocrinol. 2011;165:739-44.
53. Øystese KA, Evang JA, Bollerslev J. Non-functioning pituitary adenomas: growth and aggressiveness. Endocrine. 2016;53:28-34.
54. Lloyd RV, Kovacs K, Young WF, Farrel WE, Asa AL, Trouillas J i sur. Pituitary Tumors: Introduction. U: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, ur. Tumours of the pituitary, chapter 1. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. World Hearth Organization Classification of Tumours. IARC Press: Lyon; 2004, str. 9-48.
55. Mete O, Asa SL.Therapeutic implications of accurate classification of pituitary adenomas. Semin Diagn Pathol. 2013;30:158-64.
56. Al-Shraim M, Asa SL. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumors: what is new? Acta Neuropathol. 2006;111:1-7.
57. Mete O, Asa SL.Clinicopathological correlations in pituitary adenomas. Brain Pathol. 2012;22:443-53.
58. Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ i sur. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: An analysis using MIB-1 antibody. Neurosurgery. 1996;38:99-107.

59. Burger PC, Shibata T, Kleihules P. The use of monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to sugrical neuropathology. Am J Surg Pathol. 1986;10:611-617.
60. Salehi F, Scheithauer BW, Kovacs K, Ricardo V. Lloyd RV, Cusimano M. Ki-67 in pituitary neoplasms: A Review—Part I. Neurosurgery. 2009;65:429-437.
61. Tanaka Y, Hongo K, Tada T. Growth pattern and rate in residual nonfunctioning pituitary adenomas: correlation among tumor volume doubling time, patient age and MIB-1 index. Journal of Neurosurgery. 2003;98:359-365.
62. Jaffrain-Rea ML, Di Stefano D, Minniti G, Esposito V, Bultrini A, Ferretti E i sur. A critical reappraisal of MIB-1 labelling index significance in a large series of pituitary tumours: secreting versus non-secreting adenomas. Endocr Relat Cancer. 2002;9:103–113.
63. Fusco A, Zatelli MC, Bianchi A, Cimino V, Tilaro L, Veltri F i sur. Prognostic significance of the Ki-67 labeling index in growth hormone-secreting pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93:2746–2750.
64. Paek KI, Kim SH, Song SH, Choi SW, Koh HS, Youm JY i sur. Clinical significance of Ki-67 labeling index in pituitary macroadenoma. J Korean Med Sci. 2005;20:489-94.
65. Chacko G, Chacko AG, Kovacs K, Scheithauer BW, Mani S, Muliyil JP i sur. The clinical significance of MIB-1 labeling index in pituitary adenomas. Pituitary. 2010;13:337–344.
66. Kasuki Jomori De Pinho L, Vieira Neto L, Armondi Wildemberg LE, Gasparetto EL, Marcondes J, de Almeida Nunes B i sur. Low aryl hydrocarbon receptor-interacting protein expression is a better marker of invasiveness in somatotropinomas than Ki-67 and p53. Neuroendocrinology. 2011;94:39-48.
67. Madsen H, Borges TM, Knox AJ, Michaelis KA, Xu M, Lillehei KO i sur. Giant pituitary adenomas: Pathologic-radiographic correlations and lack of role for p53 and MIB-1 labeling. Am J Surg Pathol. 2011;35:1204–1213.
68. Sarkar S, Chacko AG, ChackoG. An analysis of granulation patterns, MIB-1 proliferation indices and p53 expression in 101 patients with acromegaly. Acta Neurochir (Wien). 2014;156:2221-30.

69. Gejman R, Swearingen B, Hedley-Whyte T. Role od Ki-67 proliferation index and p53 expression in predicting progression of pituitary adenomas. Hum Pathol. 2008;39:758-766.
70. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. Nature. 1991;351:453-456.
71. Harris C, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med. 1993;329:1318-1327.
72. Ozer E, Canda MS, Ulukus C, Guray M, Erbayraktar S. Expression of Bcl-2, Bax and p53 proteins in pituitary adenomas: an immunohistochemical study. Tumori. 2003;89:54-9.
73. Heaney A. Clinical review: Pituitary carcinoma: difficult diagnosis and treatment. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:3649-3660.
74. Mete O, Lopes MB. Overview of the 2017 WHO Classification of Pituitary Tumors. Endocr Pathol. 2017;28:228-243.
75. Zada G, Woodmansee WW, Ramkissoon S, Amadio J, Nose V, Laws ER Jr. Atypical pituitary adenomas: incidence, clinical characteristics, and implications. J of Neurosurgery. 2011;114:336-344.
76. Kaltsas GA, Nomikos P, Kontogeorgos G, Buchfelder M, Grossman AB. Clinical review: Diagnosis and management of pituitary carcinomas. J Clin Enocrinol Metabolism. 2005;90:3089-3099.
77. Pernicone PJ, Scheithauer BW. Invasive pituitary adenoma and pituitary carcinoma. U: Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW and Lloyd RV, ur. Diagnosis and Management Pituitary Tumors. Human Press: Totowa; 2001, str. 369-386.
78. Thapar K, Scheithauer BW, Kovacs K, Pernicone PJ, Laws ER Jr. p53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fraction. Neurosurgery. 1996;38:765-770.
79. Trouillas J, Roy P, Sturm N, Dantony E, Cortet-Rudelli C, Viennet G i sur. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multi-centric case-control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. Acta Neuropathologica. 2013;126:123-135.
80. Miermeister CP, Petersenn S, Buchfelder M, Fahlbusch R, Lüdecke DK, Hölsken A i sur. Histological criteria for atypical pituitary adenomas - data from

the German pituitary adenoma registry suggests modifications. Acta Neuropathol Commun. 2015;19;3:50.

81. Raverot G, Burman P , McCormack A, Heaney A, Petersenn S, Popović V i sur.; European Society of Endrocrinology. ESE Clinical Practice Guidelines for the Management of Aggressive Pituitary Tumours and Carcinomas. Eur J Endocrinol. 2018;178:G1-G24.
82. Starke RM, Williams BK, Jane JA Jr, Sheehan JP. Gamma knife surgery for patients with nonfunctioning pituitary macroadenomas: predictors of tumor control, neurological deficits, and hypopituitarsim. J Neurosurg. 2012;11:129-35.
83. McCormack AI, Wass JA, Grossman AB. Aggressive pituitary tumours: the role of temozolomide and the assessment of MGMT status. Eur J Clin Invest. 2011;41:1133-48.
84. Raverot G, Jouanneau E, Trouillas J. Clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. Eur J Endocr. 2014;170:121-132.
85. Saeger W, Ludecke DK, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe HJ, Petersenn S. Pathohistological classification od pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tor Registry. Eur J Endocrinol. 2007;156:203-16.
86. Yildirim AE, Divanlioglu D, Nacar OA, Dursun E, Sahinoglu M, Unal T i sur. Incidence, hormonal distribution and postoperative follow up of atypical pituitary adenomas. Turk Neurosurg. 2013;23:226-31.
87. Tortosa F, Webb SM. Atypical pituitary adenomas: 10 years of experience in a reference centre in Portugal. Neurologia. 2016;31:97-105.
88. Mamelak AN, Carmichael JD, Park P, Bannykh S, Fan X, Bonert HV. Atypical pituitary adenoma with malignant features. Pituitary. 2011;14:92-7.
89. Pasquel FJ, Vincentelli C, Brat DJ, Oyesiku NM, Ioaquimescu AG. Pituitary carcinoma in situ. Endocr Pract. 2012;19:69—73.
90. 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. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:2665-9.

91. Solak M, Kraljevic I, Dusek T, Melada A, Kavanagh MM, Peterkovic V, Ozretic D, Kastelan D. Management of Cushing's disease: a single-center experience. Endocrine. 2016;51:517-23.
92. Wolfsberger S, Wunderer J, Zachenhofer I, Czech T, Bocher-Schwarz HG, Hainfellner J i sur. Expression of cell proliferation markers in pituitary adenomas-correlation and clinical relevance of MIB-1 and anti-topoisomerase –liα. Acta Neurochir (Wien). 2004;146:831-839.
93. Mastronadi L, Guiducci A, Spera C, Puzzilli F, Liberati F, Maira G. Ki-67 labelling index and invasiveness among anterior pituitary adenomas: analysis of 103 cases using MIB-1 monoclonal antibody. J Clin Pathol. 1999; 52:107-11.
94. Zhao D, Tomono Y, Nose T. Expression pf P27kip1 and Ki-67 in pituitary adenomas: in investigation of marker of adenoma invasiveness. Acta Neurochir (Wien). 1999;141:187-92.
95. Pizzaro CB, Oliveira MC, Coutinho LB, Ferreira NP. Measurement of Ki-67 antigen in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. Braz J Med Biol Res. 2004;37:235-43.
96. Honegger J, Prettin C, Feuerhake F, Petrick M, Schulte-Monting J, Reincke M. Expression of Ki-67 antigen in nonfunctioning pituitary adenomas: correlation with growth velocity and invasiveness. J Neurosurg. 2003;99:674-679.
97. Yamada S, Ohyama K, Tagushi M, Takeshita A, Morita K, Takano K i sur. A study of the correlation between morphological findings and biological activities in clinically nonfunctioning pituitary adenomas. Neurosurgery. 2007;61:580-585.
98. Lath R, Chacko G, Chandy MJ. Determination of Ki-67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody. Neurol India. 2001;49:144-7.
99. Brochier S, Galland F, Kujas M, Parker F, Gaillard S, Raftopoulos C i sur. Factors predicting relapse of nonfunctioning pituitary macroadenomas after neurosurgery: a study of 142 patients. European Journal of Endocrinology. 2010;163:193–200.
100. O'Sullivan EP, Woods C, Glynn N, Behan LA, Crowley R, O'Kelly P i sur. The natural history of surgically treated but radiotherapy-naïve nonfunctioning pituitary adenomas. Clin Endocrinol (Oxf). 2009;71:709-14.

101. Greenman Y, Ouaknine G, Veshchev I, Reider-Groswasser II, Segev Y, Stern N. Postoperative surveillance of clinically nonfunctioning pituitary macroadenomas: markers of tumour quiescence and regrowth. Clin Endocrinol (Oxf). 2003;58:763-9.
102. Dubois S, Guyetant S, Menei P, Rodien P, Illouz F, Vielle B i sur. Relevance of Ki-67 and prognostic factors for recurrence/progression of gonadotropic adenomas after first surgery. European J of Endocrinol. 2007;157:141-147.
103. Righi A, Agati P, Sisto A, Frank G, Faustini-Fustini M, Agati R i sur. A classification tree approach for pituitary adenomas. Hum Pathol. 2012;43:1627-37.
104. Chiloiro S, Bianchi A, Doglietto F, de Waure C, Giampietro A, Fusco A i sur. Radically resected pituitary adenomas: prognostic role of Ki 67 labeling index in a monocentric retrospective series and literature review. Pituitary. 2014;17:267-76.
105. Monsalves E, Larjani S, Loyola Godoy B, Juraschka K, Carvalho F, Kucharczyk W i sur. Growth Patterns of Pituitary Adenomas and Histopathological Correlates. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99:1330-1338.
106. Shrestha R, Qi Li, Bao G, Wand MD. Prospective study of transsphenoidal pituitary surgery: is tumor volume a predictor for the residual tumor? Chin Med J (Engl). 2012;125: 2444-8.
107. Jain AK, Gupta AK, Pathak A, Bhansali A, Bapuraj JR. Endonasal transsphenoidal pituitary surgery: is tumor volume a key factor in determining outcome? Am J Otolaryngol. 2008;29:48-50.
108. Wierinckx A, Auger C, Devauchelle P, Reynaud A, Chevallier P, Jan MJ i sur. A diagnostic marker set for invasion, proliferation, and aggressiveness of prolactin pituitary tumors. Endocrine-Related Cancer. 2007;14:887-900.
109. Suliman M, Royds J, Cullen D, Timperley W, Powell T, Battersby R i sur. Mdm2 and the p53 pathway in human pituitary adenomas. Clin Endocrinol (Oxf). 2001;54:317-25.
110. Kim JS, Lee YS, Jung MJ, Hong YK. The Predictive Value of Pathologic Features in Pituitary Adenoma and Correlation with Pituitary Adenoma Recurrence. J Pathol Transl Med. 2016;50:419-425.

111. Tampourlou M, Ntali G, Ahmed S, Arlt W, Ayuk J, Byrne JV i sur. Outcome of Nonfunctioning Pituitary Adenomas That Regrow After Primary Treatment: A Study From Two Large UK Centers. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102:1889-1897.
112. Losa M, Mortini P, Barzaghi R, Ribotto P, Terreni MR, Marzoli SB i sur. Early results of surgery in patients with nonfunctioning pituitary adenoma and analysis of the risk of tumor recurrence. J Neurosurg. 2008;108:525-32.

11. ŽIVOTOPIS

Mirsala Solak, dr. med., specijalist internist i subspecijalist endokrinolog i dijabetolog, rođena je u Livnu 10. lipnja 1980. godine. Maturirala je u V. gimnaziji u Zagrebu. Diplomirala je u lipnju 2005. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Obavezni pripravnički staž je odradila u KB za plućne bolesti „Jordanovac“, nakon čega je u siječnju 2007. godine položila državni ispit. Znanstveni poslijediplomski studij „Biomedicina i zdravstvo“ na Medicinskom fakultetu u Zagrebu je upisala 2007. godine. Godine 2012. je položila specijalistički ispit iz interne medicine. U Zavodu za endokrinologiju Klinike za unutrašnje bolesti, KBC Zagreb radi od 2013.g., a 2016. g. je položila ispit iz uže specijalnosti endokrinologije i dijabetologije. Njezino uže područje interesa su bolesti hipofize i bolesti štitnjače. Autor je i koautor 12 znanstvenih i stručnih radova od kojih je 10 objavljeno u časopisima indeksiranima u Current Contents.