Proliferacijski indeks i mitotska aktivnost u adenomima hipofize

Petrović, Branko

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:105:789037

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Branko Petrović

Proliferacijski indeks i mitotska aktivnost u adenomima hipofize

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC Zagreb pod vodstvom doc.dr.sc. Danijele Kolenc i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015./2016.

Popis kratica korištenih u radu:

ACTH	adrenokortikotropin (eng. *adrenocorticotropic hormone*)
ADH	antidiuretski hormon
FSH	folikulostimulirajući hormon
GH	hormon rasta (eng. *growth hormone*)
GHRH	hormon koji oslobađa hormon rasta (eng. *growth hormone-releasing hormone*)
GTH	gonadotropini (eng. *gonadotrophic hormone*)
G0	faza mirovanja u staničnom ciklusu (eng. *gap 0 phase*)
G1	prva faza staničnog ciklusa (eng. *gap 1 phase*)
G2	druga faza staničnog ciklusa (eng. *gap 2 phase*)
IGF-I	čimbenik rasta sličan inzulinu (eng. *insulin-like growth factor*)
KBC	klinički bolnički centar
Ki-67	proliferacijski indeks
LH	luteinizirajući hormon
M	mitotska faza staničnog ciklusa
M	muškarac
MRI	magnetska rezonanca (eng. *magnetic resonance imaging*)
N	apsolutni broj adenoma

PIF	čimbenik koji inhibira oslobađanje prolaktina (eng. *prolactin inhibiting factor*)
PRL	prolaktin
S	faza sinteze DNK u staničnom ciklusu
TSH	tireotropin (eng. *thyroid-stymulating hormone*)
VVP	veliko vidno polje
Ž	žena
III	treći kranijalni živac, *n. oculomotorius*
IV	četvrti kranijalni živac, *n. trochlearis*
V_1	prva grana petog kranijalnog živca, *n. ophtalmicus*
V_2	druga grana petog kranijalnog živca, *n. maxillaris*
VI	šesti kranijalni živac, *n. abducens*

SADRŽAJ

1. SAŽETAK I

2. SUMMARY II

3. UVOD 1

3.1. Anatomija 1

3.2. Adenohipofiza 1

3.3. Neurohipofiza 2

3.4. Adenomi prednjeg režnja hipofize 2

3.5. Klinička slika 3

3.5.1. Prolaktinomi 3

3.5.2. Somatotropinomi 5

3.5.3. GH i PRL producirajući adenomi 6

3.5.4. Kortikotropinomi 7

3.5.5. Gonadotropinomi 9

3.5.6. Tireotropinomi 10

3.5.7. Nefunkcionalni adenomi 11

3.5.8. Plurihormonalni adenomi 11

3.6. Proliferacijski markeri 12

3.6.1. Mitotska aktivnost 12

3.6.2. Proliferacijski indeks Ki-67 13

4. CILJ RADA 14

5. ISPITANICI I METODE 14

5.1. Metode 15

6. REZULTATI 15

6.1. Kliničke i patohistološke karakteristike bolesnika 15

6.2. Karakteristike adenoma hipofize 17

6.2.1. Karakteristike adenoma hipofize temeljene na patohistološkoj analizi i imunohistokemijskom bojenju 17

6.2.2. Karakteristike adenoma hipofize temeljene na kliničkoj slici 20

7. RASPRAVA 22

8. ZAKLJUČAK 23

9. ZAHVALE 24

10. LITERATURA 25

11. ŽIVOTOPIS 27

1. SAŽETAK

Proliferacijski indeks i mitotska aktivnost u adenomima hipofize

Branko Petrović

Adenomi hipofize odgovorni su za 15% svih intrakranijalnih neoplazmi i najčešći su uzrok hiposekrecije ili hipersekrecije hormona adenohipofize. Najčešće se radi o benignim tumorima monoklonalnog podrijetla nastalih od jedne od pet vrsta stanica adenohipofize. Određivanjem proliferacijskih markera u adenomima želimo saznati vjerojatnost agresivnosti i lokalne rekurentosti tumora, te je cilj ovog rada bilo odrediti karakteristike adenoma hipofize s naglaskom na proliferacijski indeks Ki-67 i mitotsku aktivnost. U istraživanje je uključeno ukupno 83 bolesnika liječena u KBC-u Zagreb. Kod njih 95% nađen je makroadenom, dok je samo 5% imalo mikroadenom. Mitotska aktivnost u svim tumorima bila je niska, dok je proliferacijski indeks varirao od 0,7% do 10%. Kod trećine bolesnika indeks je bio iznad 3%. Tumori s nižim vrijednostima Ki-67 bili su somatotropinomi i neaktivni adenomi s medijanom od 2%, dok je kod kortikotropinoma i prolaktinoma indeks bio oko 5%. Potrebna su daljnja istraživanja kojima bi se utvrdio utjecaj ovih markera na invazivnost i rekurentnost adenoma.

Ključne riječi: adenomi hipofize, proliferacijski indeks, Ki-67, mitotska aktivnost

2. SUMMARY

Proliferation index and mitotic activity in pituitary adenomas

Branko Petrović

Pituitary adenomas account for 15% of all intracranial neoplasms and are the most common cause of pituitary hormone hyposecretion or hypersecretion syndromes. These are benign tumors of monoclonal origin that originate from one out of five types of pituitary cells. Probability of aggressiveness and local recurrence of adenomas is determined with proliferation markers. The aim of this study was to determine characteristics of adenomas with the stress on proliferation index and mitotic activity. In this research we analyzed data of 83 patients treated at the University Hospital Centre Zagreb. Macroadenomas were found in 95% of cases, while 5% of cases had microadenomas. Mitotic activity in all tumors was low, while proliferation index varied from .7% to 10%. Third of patients had index above 3%. Somatotropinomas and nonfunctioning adenomas had lower levels of Ki-67 with mean of 2%, and corticotropinomas and prolactinomas had a mean of 5%. Further studies are needed in order to determine the effect of these markers on invasiveness and local recurrence of adenomas.

Key words: pituitary adenoma, proliferation index, Ki-67, mitotic activity

3. UVOD

3.1. Anatomija

Hipofiza je mala endokrina žlijezda težine oko 600 mg, smještena unutar udubljenja sfenoidne kosti koje se naziva sella turcica ili tursko sedlo (Melmed et al. 2012). Sastoji se od dva režnja; prednjeg režnja ili adenohipofize i stražnjeg režnja ili neurohipofize. Adenohipofiza je povezana s jezgrama hipotalamusa koje luče oslobađajuće i inhibirajuće hormone koji moduliraju njenu funkciju. Neurohipofiza izravni je nastavak hipotalamusa i oblikuju je aksoni supraoptičke i paraventrikularne jezgre (Robertson 2012). U okolini hipofize nalaze se brojne strukture uključujući i kavernozne sinuse, kranijalne živce i optičku kijazmu (Melmed et al. 2012). Iz tog razloga svako povećanje hipofize uz hormonalne promjene može dovesti i do poremećaja funkcije okolnih struktura.

3.2. Adenohipofiza

Adenohipofiza pod kontrolom hipotalamusa odgovorna je za sekreciju šest različitih vrsta hormona: tireotropin (TSH), adrenokortikotropin (ACTH), hormon rasta (GH), prolaktin (PRL), te luteinizirajući hormon (LH) i folikulostimulirajući hormon (FSH) koji se zajednički nazivaju gonadotropinima (GTH). Sekretorne stanice koje luče te hormone su u pravilu distribuirane u zone (Scheithauer et al. 2010). U središnjem dijelu adenohipofize nalaze se adrenokortikotropne stanice koje luče ACTH i tireotropne stanice koje luče

TSH. Lateralni dijelovi adenohipofize sastoje se od somatotropnih stanica koje luče GH i laktotropnih stanica koje luče PRL. Jedino su gonadotropne stanice, odgovorne za sintezu LH i FSH, podjednako raspršene kroz tkivo adenohipofize.

3.3. Neurohipofiza

Stražnji režanj hipofize odgovoran je za sekreciju dva hormona: antidiuretski hormon (ADH) i oksitocin. Njihova sinteza odvija se u neuronima čije se tijelo nalazi u supraoptičkim i paraventrikularnim jezgrama hipotalamusa (Robertson 2012). Kao takvi pakiraju se u neurosekretorne vezikule, koje aksonalnim transportom dolaze do završetaka aksona neurohipofize gdje će egzocitozom biti izlučene u perifernu krv.

3.4. Adenomi prednjeg režnja hipofize

Adenomi prednjeg režnja odgovorni su za 15% svih intrakranijalnih neoplazmi i najčešći su uzrok hipersekrecije ili hiposekrecije hormona hipofize u odrasloj populaciji (Melmed et al. 2012). To su benigni tumori, u pravilu monoklonalnog podrijetla, koji nastaju od jedne od pet vrsta stanica adenohipofize (Jacoby et al. 1990). Na temelju hormonske sekrecije možemo ih podijeliti na hormonski aktivne i hormonski inaktivne tumore, dok na temelju veličine ih dijelimo na mikroadenome (<10 mm dijametralno) i makroadenome (>10 mm dijametralno) (Melmed et al. 2012).

3.5. Klinička slika

Klinička slika ovisi o veličini i hormonskoj aktivnosti adenoma. Hormonski inaktivni tumori daju kliničku sliku na osnovi kompresije okolnih struktura (Melmed et al. 2012). Glavobolja je najčešći simptom i njena jačina nije u korelaciji s veličinom samog adenoma. Ekspanzija prema kavernoznom sinusu i afekcija kranijalnih živaca (III, IV, VI, V_1 i V_2) može uzrokovati oftalmoplegiju, ptozu kapka, dvoslike, te smanjen osjet dodira u zahvaćenim dermatomima. Supraselarni rast tumora uzrokuje pritisak na optičku kijazmu s posljedičnim ispadima vidnog polja koji u početku mogu biti i reverzibilne prirode. Ako tumor kompromitira normalnu cirkulaciju u portalnom krvotoku hipofize, hormoni hipotalamusa i dopamin ne mogu doći do svog ciljnog mjesta. To rezultira hiperprolaktinemijom i hiposekrecijom ostalih hormona hipofize, te je primjer kako i hormonski inaktivan tumor može dati kliničku sliku hipersekrecijskog sindroma. Rast tumora prema frontalnom režnju mozga je rijedak i može rezultirati promjenama osobnosti. Klinička slika hormonski aktivnih tumora osim što ovisi o ekspanzivnom rastu tumora i kompresiji okolnih struktura, ovisi i o hipersekreciji specifičnog hormona.

3.5.1. Prolaktinomi

Prolaktinomi su tumori nastali od laktotropnih stanica, incidencija im je oko 25% što ih čini najučestalijim hormonski aktivnim adenomima hipofize (Melmed et al. 2012; Scheithauer et al. 2010). Klinička slika se donekle razlikuje po spolu. Žene reproduktivne dobi su znatno osjetljivije na hiperprolaktinemiju koja se prezentira kao oligomenoreja ili amenoreja,

neplodnost i galaktoreja (Melmed et al. 2012). Upravo zbog te veće osjetljivosti na hiperprolaktinemiju mikroadenomi su 20 puta učestaliji u žena nego u muškaraca, dok su makroadenomi podjednako učestali po spolovima (Melmed et al. 2012). Klinička slika u muškaraca najčešće nastaje uslijed kompresije okolnih struktura, a uz to mogu biti prisutni i simptomi poput smanjenog libida i neplodnosti (Scheithauer et al. 2010). Dijagnoza prolaktinoma se postavlja na temelju kliničke slike, laboratorijskih nalaza PRL u krvi i magnetske rezonance (MRI). Koncentracija PRL u krvi direktno korelira s veličinom adenoma; vrijednosti iznad 250 μg/l u pravilu upućuju na makroadenom (Melmed et al. 2012). Koncentracije ispod 100 μg/l mogu upućivati na mikroadenome, ali i na lezije selle turcice druge etiologije koje mogu vršiti kompresiju na držak hipofize. Prilikom toga je spriječeno normalno djelovanje dopamina (koji se ovdje može nazvati i PIF, eng. *prolactine inhibiting factor*) koji se ponaša kao čimbenik koji koči lučenje prolaktina (Šimunić 2001). Terapija prolaktinoma je u pravilu konzervativna s agonistima dopamina (npr. bromokriptin) koji osim što sprječavaju lučenje PRL, mogu uzrokovati i smanjenje samog adenoma (Melmed et al. 2012). Dugotrajna terapija često može uzrokovati značajnu intersticijsku fibrozu tumora (Barrow et al. 1984; Tindall et al. 1982). Kirurška resekcija je rezervirana za bolesnike koji su rezistentni ili su razvili nuspojave na dopaminske agoniste, te za one sa znakovima invazivnog makroadenoma.

3.5.2. Somatotropinomi

Somatotropne stanice čine do 50% svih stanica adenohipofize i odgovorne su za sekreciju GH (Melmed et al. 2012). Sekrecija GH je pulsatilna i najviše vrijednosti se zapažaju navečer, uobičajeno unutar jednog sata nakon sna. GH jedan dio svoje funkcije obavlja stimulirajući GH receptore, ali također velik dio njegovih fizioloških učinaka je posredovan preko IGF-I (čimbenik rasta sličan inzulinu). Najveći izvor IGF-I je jetra koja ga luči na stimulaciju hormonom rasta (Melmed et al. 2012).

Adenomi koji proizvode GH nazivaju se somatotropinomima i predstavljaju oko 10% svih adenoma hipofize (Scheithauer et al. 2010). Patohistološki se mogu podijeliti u gusto granulirane i rijetko granulirane. Ta patohistološka slika se ocrtava i na kliničku sliku; prema Kontogeorgos et al. (2004) rijetko granulirani tumori prezentirali su se samo kao makroadenomi i bili su izrazitije invazivog ponašanja. Uzrok tome je dijelom autokrina stimulacija, jer ova varijanta tumora često izlučuje hipotalamički hormon koji oslobađa GH (GHRH) (Thapar et al. 1997) . Klinička slika somatotropinoma ovisi o dobi pacijenta; ako nastanu u djece i pacijenata prije zatvaranja epifiznih ploča rasta u kostima manifestira se kao gigantizam, dok se kod odraslih prezentira kao akromegalija, što je i znatno češći slučaj (Scheithauer et al. 2010).

Akromegalija se klinički prezentira rastom okrajina (grč. *akros* – okrajina, ekstremitet; *megalos* – velik); povećanje šaka i stopala, uvećanje frontalne kosti (eng. *frontal bossing*) i supraorbitalnih lukova, rast mandibule s posljedičnim prognatizmom, ali dolazi i do porasta mekih tkiva,

kardiomiopatije, koronarne bolesti i arterijske hipertenzije (Melmed et al. 2012). Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike, razina GH i IGF-I, te MRI slika. Zbog pulsatilnog lučenja GH, nativno određivanje GH nema kliničku važnost, nego se određuje nakon oralnog davanja 75 g glukoze, nakon čega kod bolesnika s adenomom ne dolazi do supresije lučenja GH (Melmed et al. 2012). Kirurška resekcija je primarni oblik liječenja, dok je medikamentozna terapija analozima somatostatina (oktreotid) i antagonistima GH receptora (pegvisomant) rezervirana za bolesnike kao preoperativna terapija i za one kod kojih kirurško liječenje nije uspjelo ili je kontraindicirano.

3.5.3. GH i PRL producirajući adenomi

Laktotropne i somatotropne stanice diferenciraju se iz zajedničkog prekursora, zbog čeka ni ne čudi da se u dijelu adenoma hipofize klinički ili patohistološki utvrdi da sintetiziraju i GH i PRL (Melmed et al. 2012).

Miješani adenom somatotropnih i laktotropnih stanica je pravi miješani tumor kojeg sačinjavaju dvije različite vrste stanica (Scheithauer et al. 2010). Klinički se većinom prezentiraju znakovima akromegalije, dok su simptomi hiperprolaktinemije uglavnom blagi.

Adenomi mamosomatotropnih stanica nastaju iz jedne vrste stanica koje luče i GH i PRL (Scheithauer et al. 2010). Klinički se također prezentiraju znakovima hipersekrecije GH i blagim simptomima hiperprolaktinemije.

Adenomi acidofilnih matičnih stanica su rijetki tumori koji čine manje od 5% svih GH-producirajućih adenoma (Scheithauer et al. 2010). Za razliku od

prethodna dva adenoma većinom se prezentiraju simptomima hiperprolaktinemije, dok znakovi hipersekrecije GH uglavnom izostanu. Važno ih je pravilno prepoznati, zato što mogu imati kliničku sliku agresivnog tumora, unatoč činjenici da imaju nizak proliferacijski indeks Ki-67 i nisku mitotsku aktivnost.

3.5.4. Kortikotropinomi

Kortikotropne stanice su zadužene za sintezu i sekreciju adrenokortikotropnog hormona (ACTH). Lučenje ACTH je pulsatilno i ovisno o cirkadijanom ritmu (Melmed et al. 2012). Adenome nastale iz ovih stanica nazivamo kortikotropinomima i možemo ih podijeliti na četiri vrste (Scheithauer et al. 2010); to su: (1) adenomi s hipersekrecijom ACTH kao dio kliničke slike Cushingove bolesti (*Morbus Cushing*), (2) agresivniji adenomi kao dio kliničke slike Nelsonovog sindroma, (3) adenomi Crookovih stanica, te tzv. (4) tihi ili silentni kortikotropni adenomi.

Adenomi Cushingove bolesti čine oko 10% svih adenoma hipofize (Scheithauer et al. 2010) te su odgovorni za 70% endogenih uzroka Cushingova sindroma (Melmed et al. 2012). Za razliku od normalnih kortikotropnih stanica u adenomima sekrecija ACTH nije pulsatilna, što rezultira hiperkortizolemijom. Ipak adenomi zadrže određenu mogućnost supresije lučenja u prisutnosti visokih koncentracija glukokortikoida (Melmed et al. 2012). Na temelju kliničke slike 85% ih se otkrije rano, u fazi mikroadenoma (Scheithauer et al. 2010). Klasični znakovi i simptomi uključuju centralni oblik pretilosti, stanjenje kože, arterijsku hipertenziju, nakupljanje

masnog tkiva u području lica (*facies lunata*) i stražnjeg dijela vrata (tzv. *buffalo hump*), lividne strije, poremećenu toleranciju glukoze, te hirzutizam i menstrualne poremećaje u bolesnica (Melmed et al. 2012). Glavni uzrok smrti u neliječenih bolesnika su kardiovaskularne komplikacije. Dijagnoza Cushingovog adenoma se postavlja na temelju kliničke slike, laboratorijskih nalaza i MRI. Koncentraciju ACTH i kortizola najbolje je procjeniti nakon prekonoćnog 1 mg deksametazonskog testa; u bolesnika s adenomom ne dolazi do supresije lučenja kortizola. MRI je metoda izbora za vizualizaciju adenoma. Ipak, u slučajevima kad je tumor manji od 2 mm neće ga se moći prikazati niti MRI-om, pa se u tim slučajevima radi bilateralna kateterizacija petroznih sinusa prilikom čega mjerimo koncentraciju ACTH (Melmed et al. 2012). Nakon potvrde dijagnoze Cushingovog adenoma, pristupa se kirurškoj resekciji tumora kao najboljem modalitetu liječenja.

Crookov hijalin je naziv za masivnu perinuklearnu akumulaciju keratinskih vlakanaca unutar kortikotropnih stanica (Scheithauer et al. 2010). Nastaje u normalnim kortikotropnim stanicama kao odgovor na suvišak glukokortikoida (Roncaroli et al. 2011). U nekim slučajevima Crookov hijalin može uzrokovati promjene u kortikotropinomima koje još u potpunosti ne razumijemo, ali se zna da za razliku od tipičnih Cushingovih adenoma ovaj rijetki oblik tumora ima agresivniju kliničku sliku (George et al. 2003).

Nelsonov sindrom je rijetko stanje koje može nastati nakon bilateralne adrenalektomije (Melmed et al. 2012). Kod bolesnika kod kojih se ne može radiološki potvrditi adenom hipofize ili kod onih koji imaju invazivni adenom bez mogućnosti potpune kirurške resekcije kao zadnja metoda liječenja ostaje bilateralno odstranjenje obje nadbubrežne žlijezde. Na taj način se spriječi

daljnje nekontrolirano lučenje kortizola, ali s obzirom da time prekinemo mehanizam povratne sprege, adenom može početi nekontrolirano rasti. Uslijed toga 20% bolesnika umre zbog lokalno agresivnog tumora. Zbog napretka tehnologije i boljeg radiološkog prikazivanja sve manjih tvorbi, učestalost Nelsonovog sindroma je u znatnom opadanju (Scheithauer et al. 2010).

Oko 5% svi kortikotropinoma čine tzv. tihi kortikotropinomi koji nisu popraćeni povišenim vrijednostima ACTH niti kliničkim znakovima i simptomima Cushingove bolesti. Ova vrsta adenoma najvjerovatnije nastane zbog nemogućnosti sekrecije ACTH ili sekrecije promijenjenog i biološki neaktivnog oblika ACTH koji se ne može detektirati klasičnim laboratorijskim pretragama. Zbog izostanka tipične kliničke slike ovi tumori se otkriju u kasnijoj fazi kao makroadenomi i češće su invazivnijeg ponašanja (Scheithauer et al. 2010).

3.5.5. Gonadotropinomi

Oko 10% do 15% tumora adenohipofize čine gonadotropinomi nastali iz gonadotropnih stanica koje oslobađaju FSH i LH. Klinički rijetko uzrokuju znakove hipersekrecijskog sindroma zbog čega se najčešće radi o makroadenomima. Češće se dijagnosticiraju u starijoj populaciji i u muškaraca (Scheithauer et al. 2010). U rijetkim slučajevima kad uzrokuju znakove hipersekrecije, klinička slika se razlikuje po spolovima. U muškaraca je razina testosterona snižena, iako je razina LH povišena. To najvjerovatnije nastane zbog snižene bioaktivnosti LH ili zbog gubitka normalnog pulsatilnog lučenja.

(Melmed et al. 2012) U premenopauzalnih žena zbog cikličke promjenjivosti koncentracije FSH, teško je razlikovati da li je FSH povišen zbog tumorske sekrecije ili normalnih promjena tijekom menstrualnog ciklusa. Kod postmenopauzalnih bolesnica koncentracija gonadotropina je normalno povišena zbog čega je teško odrediti da li je povišenje nastalo zbog adenoma. Zbog toga nalaz povišene razine gonadotropina sam za sebe nije od dijagnostičke vrijednosti, te se mora kombinirati s MRI slikovnim prikazima. Liječenje ovih tumora je kirurško i može se kombinirati s adjuvantnom radioterapijom ako preostane velika tumorska masa (Melmed et al. 2012).

3.5.6. Tireotropinomi

Tireotropinomi su tumori koji nastaju od tireotropnih stanica i najrjeđi su od svih adenoma hipofize s učestalošću oko 1% . Više od 75% tireotropinoma su invazivni makroadenomi (Scheithauer et al. 2010) koji se prezentiraju kliničkom slikom hipertireoze i gušavosti koje nastanu zbog hipersekrecije TSH (Melmed et al. 2012). Jedan dio tumora može nastati i kod pacijenata s kroničnom hipotireozom uslijed koje nastane hiperplazija tireotropnih stanica s potencijalnim razvitkom adenoma (Scheithauer et al. 2010). Dijagnoza se postavlja na temelju laboratorijskih nalaza TSH i slobodnog T_4 (FT_4) uz naravno slikovni prikaz tumora magnetskom rezonancom. Liječenje je primarno kirurško s pokušajem totalne resekcije tumora koja većinom nije moguća zbog same veličine i lokalne invazivnosti. Zbog toga je potrebna kombinacija s antitireoidnim lijekovima, ablacijom štitnjače ili analozima

somatostatina čime se u većine pacijenata uspije postići stanje eutireoze (Melmed et al. 2012).

3.5.7. Nefunkcionalni adenomi

Nefunkcionalni adenomi su najčešći tumori hipofize. Klinički uključuju one tumore koji ne luče ili luče jako malo hormona što rezultira izostankom kliničke slike. Pošto takvi tumori nemaju kliničku sliku hipersekrecijskog sindroma u pravilu se otkriju u fazi makroadenoma kad uzrokuju simptome kompresije okolnih struktura. Iako se klinički radi o nefunkcionalnom tumoru, imunohistokemijski nalaz se može razlikovati i najčešće se dokaže tumor gonadotropnih stanica, ali i silentni somatotropinom ili kortikotropinom. Transfenoidni pristup i kirurška resekcija je glavni oblik liječenja, ali mali asimptomatski tumori za koje se procjeni da nemaju mogućnost ugrožavaja vida mogu se samo redovito pratiti s MRI-om i ispitivanjem vidnog polja (Melmed et al. 2012).

3.5.8. Plurihormonalni adenomi

Hormone koje luči adenohipofiza možemo podijeliti na proteinske (GH, PRL, ACTH) i glikoproteinske (LH, FSH, TSH). Tumore koji luče kombinaciju tih dviju skupina hormona nazivamo plurihormonalni adenomi (Scheithauer et al. 2010). Većinom se radi o makroadenomima koji se klinički ispoljavaju pod kliničkom slikom akromegalije, zbog čega se definitivna dijagnoza

plurihormonalnog adenoma može postaviti samo imunohistokemijskim metodama.

3.6. Proliferacijski markeri

Proliferacija stanica jedan je od osnovnih bioloških procesa važnih u razvoju i homeostazi tkiva (van Diest et al. 1998). Ona je važan mehanizam onkogeneze, jer procjenom proliferacije želimo saznati vjerojatnost agresivnosti i lokalne rekurentnosti tumora, kao i metastatski potencijal u malignim tumorima. Dva bitna i često proučavana proliferacijska makera su mitotska aktivnost i proliferacijski indeks Ki-67.

3.6.1. Mitotska aktivnost

Mitotska aktivnost je parametar koji se rutinski određuje radi evaluacije biološke agresivnosti tumora. Određuje se mikroskopski na histološkim preparatima tumora. Postoji nekoliko metoda kojima se procjenjuje mitotska aktivnost. Prva metoda zahtjeva postavljanje 10 x 10 rešetke na okular mikroskopa koja vizualno podjeli preparat na polja, te se u svakome polju, prilikom visokog povećanja (x400) traži i broji prisutnost mitotske aktivnosti u stanicama (Thapar et al. 1996). Druga metoda je slična, samo što ne zahtjeva rešetku. Na preparatu gledanom pod mikroskopom se nađe područje s gusto raspoređenim stanicama. Od tog mjesta se gleda u svim smjerovima i traži prisutnost mitoza. Na taj se način preparat zamišljeno podjeli u polja.

Najčešće se mitotska aktivnost gleda u deset različitih polja, pa se rezultat izražava kao broj mitoza na 10 velikih vidnih polja (VVP).

3.6.2. Proliferacijski indeks Ki-67

Antigen Ki-67 nuklearni je protein koji je prisutan isključivo za vrijeme stanične proliferacije (Scholzen et al. 2000; Schonk et al. 1989). Budući da je Ki-67 prisutan tijekom svih aktivnih faza staničnog ciklusa (G1, S, G2, M), a odsutan je u stanicama koje se ne dijele (G0), to ga čini jako dobrim markerom stanične proliferacije. Određuje ga se imunohistokemijskim bojenjem pomoću MIB-1 monoklonalnog protutijela. Nakon toga se gleda postotak pozitivnih stanica na 1000 tumorskih stanica, te se rezultat izražava u postocima (%).

4. CILJ RADA

Cilj ovog rada je ustanoviti određene karakteristike adenoma hipofize s naglaskom na proliferacijski indeks Ki-67 i mitotsku aktivnost adenoma.

5. ISPITANICI I METODE

U ovo istraživanje uključeni su bolesnici kojima je potvrđena dijagnoza adenoma hipofize na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC Zagreb i koji su liječeni na Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb u razdoblju od siječnja 2013. do prosinca 2015. godine. Pretraživanjem baze podataka Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju nađeno je ukupno 99 bolesnika. Od toga je njih 83 liječeno na Zavodu za endokrinologiju KBC Zagreb i imalo je sve podatke koji su bili potrebni, te su uključeni u ovo istaživanje, dok kod preostalih 16 bolesnika ili nisu bili dostupni svi podaci ili su nastavili liječenje u nekoj drugoj bolnici zbog čega su isključeni iz daljnjeg istraživanja.

Patohistološki podaci (mitotska aktivnost, proliferacijski indeks Ki-67, vrsta hormona koju luči adenom određena imunohistokemijskim bojenjem) prikupljeni su uvidom u patohistološki nalaz iz baze podataka Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Zagreb. Klinički podaci (dob, spol, aktivnost adenoma na temelju kliničke slike, veličina) prikupljeni su iz e-kartona bolesnika.

5.1. Metode

Proliferacijski indeks Ki-67 u ovom je radu određen imunohistokemijskim bojenjem monoklonalnim protutijelom MIB-1. Vrijednost je gledana na 1000 stanica i izražena u postocima (%). Mitotska aktivnost određena je metodom gledanja u velikim vidnim poljima, te izražena kao broj mitoza na 10 velikih vidnih polja (VVP). Raspon svih vrijednosti i medijan izračunati su u programu Microsoft® Excel® for Mac 2011.

6. REZULTATI

6.1. Kliničke i patohistološke karakteristike bolesnika

Od ukupno 83 bolesnika uključenih u studiju, zastupljenost po spolovima bila je gotovo jednaka; 42 (51%) su bila muškarca i 41 (49%) žena (Tablica 1). Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze adenoma hipofize bio je 56 godina s rasponom od 24 do 83 godine. U trenutku postavljanja dijagnoze najveća proporcija bolesnika (95%) je imala makroadenom koji je u 76% slučajeva bio klinički nefunkcionalan. Pregledom preparata pod mikroskopom kod većine bolesnika (75%) nije bilo prisutno mitotske aktivnosti. Kod njih 13% je nađena jedna mitoza, kod 11% dvije mitoze, dok je samo jedan bolesnik imao 3 mitoze na 10 velikih vidnih polja (VVP). Određivanjem proliferacijskog indeksa Ki-67 ustanovljen je medijan od 2%. Najmanja zabilježena vrijednost bila je 0,7% dok je najveća bila 10%.

Tablica 1. Kliničke i patohistološke karakteristike bolesnika s adenomom hipofize

	Ukupan broj	%
Bolesnici	83	100
Spol		
muškarci	42	51
žene	41	49
Dob		
raspon	24 – 83	
medijan	56	
Veličina adenoma		
mikroadenom	4	5
makroadenom	79	95
Mitotska aktivnost (na 10 VVP)		
bez mitoza	62	75
1 mitoza	11	13
2 mitoze	9	11
3 mitoze	1	1
Proliferacijski indeks Ki-67 (%)		
raspon	0,7 – 10	
medijan	2	
<3%	55	66
≥3%	28	34
Klinička aktivnost		
neaktivni	60	72
aktivni	23	28

VVP, veliko vidno polje.

6.2. Karakteristike adenoma hipofize

Adenome hipofize smo podijelili na dva načina. Prva podjela se bazirala na patohistološkom nalazu, tj. imunohistokemijskom bojenju. Imunohistokemijskim metodama određena sekrecija hormona je služila kao baza za podjelu; npr. ako je protutijelima nađena pozitivnost na ACTH takav bi adenom bio klasificiran kao kortikotropinom bez obzira na kliničku sliku. Druga podjela je bazirana na kliničkoj slici; da bi tumor bio klasificiran kao kortikotropinom morao se prezentirati Cushingovim sindromom. Ako to nije bio slučaj, klasificiran je kao neaktivni adenom.

6.2.1. Karakteristike adenoma hipofize temeljene na patohistološkoj analizi i imunohistokemijskom bojenju

Podjelom adenoma hipofize koja je temeljena na patohistološkoj analizi i imunohistokemijskom bojenju dobilo se osam različitih tipova adenoma (Tablica 2). Najučestaliji tip adenoma s proporcijom od 25% bio je gonadotropinom. U svim slučajevima se radilo o klinički neaktivnoj formi koja se dijagnosticirala isključivo na temelju znakova kompresije okolnih struktura uslijed ekspanzivnog rasta (makroadenom). Raspon proliferacijskog indeksa Ki-67 bio je od 0,7% do 5% s medijanom od 2%, a mitotska aktivnost je u pravilu bila negativna (raspon od 0 do 2 na 10 VVP). Plurihormonalni adenomi su zabilježeni u 17 (21%) bolesnika; od toga njih 14 (82%) je imalo neaktivni adenom, a 3 (18%) bolesnika su imala hipersekrecijski sindrom. Sva tri slučaja su bile žene koje su se prezentirale kliničkom slikom akromegalije. Raspon izmjerenog indeksa Ki-67 bio je od 1% do 5% (medijan 1,5%), a

Tablica 2. Podjela i karakteristike adenoma hipofize na temelju patohistološkog nalaza i imunohistokemijskog bojenja

Tip adenoma	Zastupljenost N (%)	Klinička aktivnost N (%)		Veličina N (%)		Ki-67 (%) raspon (medijan)	Mitotska aktivnost raspon (medijan)
		neaktivni	aktivni	mikro	makro		
Kortikotropinom	9 (11)	4 (44)	5 (56)	2 (22)	7 (78)	1 – 8 (3,5)	0 – 2 (0)
Somatotropinom	11 (13)	5 (44)	6 (56)	0 (0)	11 (100)	1 – 8 (1,5)	0 – 2 (0)
GH i PRL producirajući adenom	10 (12)	3 (30)	7 (70)	0 (0)	10 (100)	1 – 10 (2,4)	0 – 2 (0)
Gonadotropinom	21 (25)	21 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0,7 – 5 (2)	0 – 2 (0)
Prolaktinom	2 (2)	0 (0)	2 (100)	2 (100)	0 (0)	3 i 7,5 (5,3)	0
Tireotropinom	1 (1)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	6,5	0
Plurihormonalni adenom	17 (21)	14 (82)	3 (18)	0 (0)	17 (100)	1 – 5 (1,5)	0 – 1 (0)
Neaktivni adenom	12 (15)	12 (100)	/	0 (0)	12 (100)	1 – 6 (2)	0 – 3 (0)

N, apsolutni broj adenoma; GH, hormon rasta; PRL, prolaktin.

mitotska aktivnost je bila niska (raspon od 0 do 1 na 10 VVP, medijan 0). Neaktivni adenomi, kod kojih se nakon imunohistokemijskog bojenja nije našla pozitivnost na hormone adenohipofize, su bili idući po učestalosti (15%). Kod svih se radilo o makroadenomima, s proliferacijskim indeksom od 1% do 6% (medijan 2%) i mitotskom aktivnosti od 0 do 3 na 10 VVP. Somatotropinomi su zabilježeni u 11 (13%) slučajeva. Svi su bili makroadenomi; 6 (56%) slučajeva su bili klinički aktivni sa slikom akromegalije, a 5 (44%) su imala samo simptome kompresije. Raspon indeksa Ki-67 iznosio je od 1% do 8%, a mitoze većinom nisu bile prisutne. Gotovo jednaku učestalost kao i somatotropinomi imali su i adenomi koji produciraju GH i PRL; našlo se 10 bolesnika (12%). Imali su makroadenom koji je u većine (70%) bio klinički aktivan i svaki se prezentirao kao akromegalija. Mitotska aktivnost je zabilježena u samo tri bolesnika, dok je Ki-67 imao veći raspon nego u drugim adenomima, od 1% do 10% s medijanom od 2,4%. Vrijednost Ki-67 od 10% je najviša zabilježena vrijednost u ovom radu; radilo se o 38-godišnjem muškarcu. Kortikotropinom je imalo 9 bolesnika (11%). Od toga 2 su imala mikroadenom, a 7 makroadenom; u 56% slučajeva se radilo o klinički aktivnom tumoru s Cushingovim sindromom. Proliferacijski indeks je bio između 1% i 8%, mitotska aktivnost između 0 i 2 na 10 VVP. Samo dvije bolesnice su imale klinički aktivan mikroprolaktinom. Ni u jednom slučaju nije zabilježena mitotska aktivnost, dok je Ki-67 u jednom slučaju iznosio 3%, a u drugom 7,5%. Najrjeđi tip adenoma zabilježen u ovoj studiji bio je tireotropinom. Radilo se o klinički neaktivnom makroadenomu dijagnosticiranom u bolesnice od 68 godina. Patohistološkim pregledom nisu nađene mitoze, a proliferacijski indeks Ki-67 iznosio je 6,5%.

6.2.2. Karakteristike adenoma hipofize temeljene na kliničkoj slici

Podjelom baziranoj na kliničkoj prezentaciji bolesnika dobilo se šest različitih tipova adenoma (Tablica 3). Daleko najzastupljenija grupa bili su bolesnici s neaktivnim adenomom čineći 72% svih bolesnika uključenih u studiju. Radilo se o makroadenomima, malo učestalijim kod muškaraca (1,5 : 1), s rasponom indeksa Ki-67 od 0,7% do 8% i u pravilu bez znakova mitotske aktivnosti. Bolesnika sa znakovima akromegalije i potvrđenim somatotorpinomom bilo je 16 odnosno 19%. Kod svih je nađen makroadenom s proliferacijskim indeksom od 1% do 10% i niskom mitotskom aktivnosti, te malo većom učestalosti u žena (1,5 : 1). Kortikotropinom je nađen kod 5 bolesnika od kojih su dva imala mikroadenom, a tri makroadenom, te se samo u jednom slučaju radilo o muškarcu dok su preostala četiri bile žene. Mitotska aktivnost je nađena samo kod jedne bolesnice i iznosla je 2 na 10 VVP, kod ostalih slučajeva je bila negativna. Proliferacijski indeks Ki-67 je imao raspon od 1% do 8% s medijanom od 5%. Kao i u podjeli prema imunohistokemijskom bojenju, tako je i podjela prema kliničkoj slici dala samo 2 slučaja prolaktinoma s proporcijom od 3%. Niti jedan bolesnik uključen u studiju nije se prezentirao simptomima i znakovima koji bi odgovarali gonadotropinomu ili tireotropinomu.

Tablica 3. Podjela i karakteristike adenoma hipofize na temelju kliničke slike

Tip adenoma	**Zastupljenost** N (%)	**Veličina** N (%)		**Ki-67 (%)** raspon (medijan)	**Mitotska aktivnost** raspon (medijan)	**Spol** M : Ž (%)
		mikro	**makro**			
Kortikotropinom	5 (6)	2	3	1 – 8 (5)	0 – 2 (0)	20 : 80
Somatotropinom	16 (19)	0 (0)	16 (100)	1 – 10 (2)	0 – 2 (0)	38 : 62
Gonadotropinom	0	/	/	/	/	/
Prolaktinom	2 (3)	2 (100)	0 (0)	3 i 7,5 (5,3)	0	0 : 100
Tireotropinom	0	/	/	/	/	/
Neaktivni adenom	60 (72)	0 (0)	60 (100)	0,7 – 8 (2)	0 – 3 (0)	58 : 42

N, apsolutni broj adenoma; M, muškarac; Ž, žena.

7. RASPRAVA

Prema rezultatima ove studije nije nađena razlika u učestalosti adenoma hipofize po spolovima, koja je bila gotovo jednaka (51% za muškarce i 49% za žene). Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze bio je 56 godina, što se razlikuje od studije Fernandez et al. (2010.) gdje je medijan bio 37 godina. Razlika najvjerojatnije postoji u drugačijim polazišnim točkama uključivanja; u ovoj studiji uključeni su samo bolesnici koji su operirali adenom, dok u studiji Fernandez et al. uključeni su bolesnici liječeni kod liječnika obiteljske medicine, što znači i uključenje bolesnika koji su isključivo na medikamentoznoj terapiji.

Visok udio makroadenoma zabilježen u ovoj studiji (95%) ne čudi s obzirom da je 60 bolesnika uključenih u studiju imalo klinički nefunkcionalan adenom koji se nije mogao dijagnosticirati na temelju kliničke slike hipersekrecijskog sindroma. Druga velika skupina makroadenoma činili su somatotropinomi čija se klinička slika razvija postupno i često su potrebne godine do postavljanja dijagnoze; prema Melmed et al. (2012) potrebno je 10 i više godina do postavljanja dijagnoze. U preostalih 5% slučajeva bolesnici su imali mikroadenom koji se kod svih prezentirao hipersekrecijskim sindromom, zbog čega je bila omogućena ranija dijagnoza.

Mitotska aktivnost kod svih je bolesnika bila niska što upućuje da se radi o benignim tumorima male agresivnosti. Samo jedan bolesnik je imao 3 mitoze na 10 VVP; radilo se o 70-godišnjoj bolesnici s klinički i patohistološki nefunkcionalnim makroadenomom.

Prema studiji Thapar et al. (1996) indeks Ki-67 iznad 3% je utvrđen kao granica za razlikovanje invazivnih od neinvazivnih adenoma hipofize sa specifičnosti od 97% i osjetljivosti od 73%. U ovoj studiji 55 bolesnika (66%) imalo je Ki-67 niži od 3%; u ovoj skupini samo 6 bolesnika imalo je pozitivnu mitotsku aktivnost. U drugoj skupini bolesnika (s Ki-67 ≥3%) gotovo polovica njih (46%) imala je pozitivnu mitotsku aktivnost.

Klinički gledano niže vrijednosti Ki-67 zabilježene su kod neaktivnih adenoma i somatotropinoma s medijanom od 2%, dok su više vrijednosti s medijanom od 5% zabilježene kod kortikotropinoma i prolaktinoma. Nizak udio prolaktinoma u studiji (samo 2 slučaja) odgovara činjenici da se većina ovih tumora uspješno liječi medikamentoznom terapijom, zbog čega nisu niti mogli biti obuhvaćeni ovom studijom.

8. ZAKLJUČAK

Većina svih tumora hipofize patohistološki su benigni adenomi. Unatoč tome određeni dio njih može biti klinički invazivnog ponašanja i sklon češćoj rekurentosti nakon operacije. Ovim radom dana je osnova o učestalosti mitotske aktivnosti i kretanju proliferacijskog indeksa Ki-67 u adenomima hipofize, ali potrebna su daljnja istraživanja kojima bi se utvrdilo kako mitotska aktivnost i Ki-67 utječu na invazivnost i u konačnici liječenje ovih benignih tumora.

9. ZAHVALE

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Danijeli Kolenc na trudu, pomoći i savjetima za vrijeme pisanja ovog diplomskog rada. Također se zahvaljujem dr.sc. Evelini Miščin, prof. na recenziji sažetka na engleskom jeziku.

10. LITERATURA

Melmed S, Jameson JL. Disorders of the anterior pituitary and hypotalamus. U: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al., ur. Harrison's principles of internal medicine. 18. izd. New York: McGraw Hill; 2012:2876-2902.

Robertson GL. Disorders of the neurohypophysis. U: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al., ur. Harrison's principles of internal medicine. 18. izd. New York: McGraw Hill; 2012:2902.

Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, et al. Pathology of the pituitary and sellar region. U: Perry A, Brat DJ, ur. Practical surgical neuropathology: a diagnostic approach. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010:371-397.

Jacoby LB, Hedley-Whyte ET, Pulaski K, et al. Clonal origin of pituitary adenomas. J Neurosurg. 1990;73:731-735.

Šimunić V. Menstruacijski ciklus. U: Ciglar S, Suchanek E, ur. Ginekologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001:32-36.

Barrow DL, Tindall GT, Kovacs K, et al. Clinical and pathological effects of bromocriptine on prolactin-secreting and other pituitary tumors. J Neurosurg. 1984;60:1-7.

Tindal GT, Kovacs K, Horvath E, et al. Human prolactin-producing adenomas and bromocriptine: a histological, immunocytochemical, ultrastructural, and morphometric study. J Clin Endocrinol Metab. 1982;55:1178-1183.

Kontogeorgos G, Watson Jr RE, Lindell EP, et al. Growth hormone producing adenomas. U: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, ur. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology & Genetics-Tumours of Endocrine Organs. Llyon: IARC Press; 2004:14-19.

Thapar K, Kovacs K, Stefaneanu L, et al. Overexpression of growth-hormone-releasing hormone gene in acromegaly-associated pituitary tumors. An event associated with neoplastic progression and aggressive behavior. Am J Pathol. 1997;151:769-784.

Roncaroli F, Faustini-Fustini M, Bravi I, et al. Adenomas of pituitary gland: diagnostic challenges, pitfalls and controversies. Diagn Histopathol. 2011;17:476-485.

George DH, Scheithauer BW, Kovacs K, et al. Crooke's cell adenoma of the pituitary: an aggressive variant of corticotroph adenoma. Am J Surg Pathol. 2003;27:1330-1336.

van Diest PJ, Brugal G, Baak JP. Proliferation markers in tumours: interpretation and clinical value. J Clin Pathol. 1998;51:716-724.

Thapar K, Yamada Y, Scheithauer B, et al. Assessment of mitotic activity in pituitary adenomas and carcinomas. Endocr Pathol. 1996;7:215-221.

Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-322.

Schonk DM, Kuijpers HJH, van Drunen E, et al. Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10. Hum Genet. 1989;83:297-299.

Fernandez A, Karavitaki N, Waas JAH. Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). Clin Endocrinol. 2010;72:377-382.

Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, et al. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using MIB-1 antibody. Neurosurgery. 1996;38:99-107.

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 9. svibnja 1990. godine u Sarajevu. Od četvrte godine živim u Zagrebu gdje sam pohađao osnovnu i srednju školu. Godine 2009. upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje sam trenutačno redovni student šeste godine. Aktivno se služim engleskim i španjolskim jezikom, te pasivno njemačkim jezikom.