

**VAŽNOST SVEUKUPNOG DIJAGNOSTIČKOG PRISTUPA
U KLASIFIKACIJI ADENOMA HIPOFIZE:
UPUTE SVJETSKE ZDRAVSTVENE ORGANIZACIJE**

**THE IMPORTANCE OF THE TEAM WORK IN DIAGNOSIS OF PITUITARY ADENOMAS:
THE FIVE-TIER WORLD HEALTH ORGANIZATION CLASSIFICATION**

TOMISLAV SAJKO, ŽIVKO GNJIDIĆ, JASNA TALAN-HRANILOVIĆ*

Deskriptori: Tumori hipofize – klasifikacija, patologija, kemija; Adenom – klasifikacija, patologija, kemija; Svjetska zdravstvena organizacija

Sažetak. Zadnjih desetak godina postignut je velik napredak u temeljnim spoznajama adenoma hipofize. Brojni pokušaji njihove klasifikacije bili su nedorečeni. Podjela adenoma prema načinu bojenja nije bila sukladna s kliničkim i biološkim svojstvima adenoma te kao takva nedostatna, posebice za donošenje odluke o daljnjem liječenju i prognozi. Sadašnja, takozvana peterorazinska klasifikacija, koju je Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) prihvatila 2000. godine, temelji se na usporednim kliničkim, endokrinološkim te makroskopskim neurokirurškim i neuroradiološkim svojstvima i patološkim (histološkim, imunocitokemijskim te elektronskomikroskopskim) istraživanjima na više od 10.000 kirurški odstranjenih tumora hipofize. Integracija ovih pet komplementarnih parametara daje novu i praktičnu kliničko-patološku ili morfofunkcionalnu klasifikaciju. Njezina je važnost u činjenici da skupljeni podaci pružaju vrijedne informacije kliničkom endokrinologu, neurokirurgu i onkologu za procjenu biološkog ponašanja tumora, potencijala rasta, odgovora na terapiju i prognozu. Zbog ograničenih financijskih sredstava, nedostatka opreme i dobro podučениh stručnjaka, predložena klasifikacija ne može biti ostvarena u svim ustanovama. Usprkos tomu, klinički i biokemijski podaci, neuroradiološki, intraoperativni i neuropatološki nalazi općenito su dostupni. Oni su nezamjenjivi u postavljanju točne dijagnoze i određivanju programa bolesnikova daljnjeg liječenja. Poznavanje mitotske i proliferacijske aktivnosti, kao i p53-imunoreaktivnosti ima veliku ulogu u definiranju adenoma s atipičnim morfološkim značajkama koje sugeriraju agresivnost i daju ovoj klasifikaciji dodatnu vrijednost. Stoga smatramo opravdanim uvođenje ove klasifikacije u rutinsku primjenu obrade bolesnika s adenomom hipofize.

Descriptors: Pituitary neoplasms – classification, pathology, chemistry; Adenoma – classification, pathology, chemistry; World Health Organization

Summary. In the last ten years great changes occurred concerning the basic knowledge on pituitary adenomas. Many different classifications of pituitary adenomas were proposed. In 2000 World Health Organization accepted the five-tier classification of pituitary adenomas proposed by Kovacs and Horvath. It is based on clinical and biochemical results, neuroradiological imaging, operative findings, pathohistological examination, immunocytochemistry and electron microscopy studies on more than 10000 surgically treated pituitary adenomas. Its importance is that it supplies the endocrinologist, neurosurgeon and oncologist with valuable information concerning the biological behavior, growth potential, treatment response and prognosis of pituitary adenomas. Due to the financial restraints, lack of facilities and unavailability of well trained personnel this five-tier classification cannot be fully implemented at our institution. Nonetheless, a perfectly useful diagnosis may be made in instances of limited sources. Clinical, biochemical, neuroradiological and intraoperative data coupled with basic histology are fundamental. Together with the novel biological techniques that provide the data on tumor's growth rate, aggressiveness and invasiveness, they are necessary in establishing the correct diagnosis which will direct patient's future treatment. We strongly advocate in favor of this five-tier classification of pituitary neoplasms and hope it will reach the full implementation.

Liječ Vjesn 2005;127:134–139

Dosadašnje spoznaje

Adenomi hipofize u pravilu su dobroćudne novotvorine, podrijetlom iz stanica adenohipofize. Smatraju se najčešćim tumorima selarne regije, čineći otprilike 15% svih intrakranijalnih tumora. Ovisno o broju pregledanih mikrosekcija hipofize, njihov se broj kreće između 5–20% neselektiranog biopsijskog materijala u odraslih ljudi. Većina tumora hipofize predstavlja proliferaciju autonomnih monoklonalnih stanica koje su sposobne za lučenje svih poznatih hormona adenohipofize.^{1–3} Ovi tumori bili su različito klasificirani na osnovi kliničke slike, biokemijskih nalaza, histološkog nalaza, proliferacijske aktivnosti, imunohistokemijskog profila i ultrastrukturnih karakteristika.

S obzirom na kliničku sliku većina tumora adenohipofize dijeli se u dvije skupine: funkcionalne i nefunkcionalne (tablica 1).²

Napretkom neuroradioloških dijagnostičkih metoda povećava se broj novootkrivenih slučajeva tumora adenohipofize. Dugo upotrebljavana Hardyjeva klasifikacija bila je zasnova-

* Klinika za neurokirurgiju, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«, Zagreb (Tomislav Sajko, dr. med.; dr. sc. Živko Gnjidić, dr. med.), Klinički zavod za patologiju »Ljudevit Jurak«, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«, Zagreb (prof. dr. sc. Jasna Talan-Hranilović, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. T. Sajko, Klinika za neurokirurgiju, KB »Sestre milosrdnice«, Vinogradska 29, 10000 Zagreb

Primljeno 17. lipnja 2004., prihvaćeno 14. siječnja 2005.

Tablica 1. *Funkcionalne klasifikacije adenohipofiznih tumora*
Table 1. *Functional classifications of pituitary adenomas*

1. Endokrina hiperfunkcija/Endocrine hyperfunction
1. a) Akromegalija/gigantizam, povišene razine GH Acromegaly/gigantism, elevated GH levels
1. b) Hiperprolaktinemija i sindrom amenoreja-galaktoreja Hyperprolactinemia and amenorrhea-galactorrhea syndrome
1. c) Cushingov sindrom, povišeni ACTH i kortizol Cushing's syndrome, increased ACTH and cortisol
1. d) Hipertiroidizam s neodgovarajućom sekrecijom TSH Hyperthyroidism with inadequate TSH secretion
1. e) Značajno povišeni FSH/LH i/ili α -SU Significantly increased FSH/LH and/or alpha-SU
1. f) Multipla hormonska prekomjerna produkcija Multiple hormone overproduction
2. Klinički nefunkcionalni/Clinically nonfunctional
3. Neodređeni funkcionalni status/Undetermined functional status
4. Endokrina prekomjerna produkcija iz ektopičnih izvora Endocrine overproduction from ectopic sources
4. a) Klinička akromegalija zbog ektopične prekomjerne produkcije hormona koji oslobađa hormon rasta (GHRH) Clinical acromegaly due to ectopic overproduction of growth hormone releasing hormone GHRH
4. b) Cushingov sindrom zbog ektopične prekomjerne produkcije CRH Cushing's syndrome due to ectopic overproduction of CRH

na na promjenama kostiju sele turcike zabilježenim konvencionalnim rendgenskim snimkama.⁴ Nakon uvođenja modernih neuroradioloških tehnika kao što su kompjutorizirana tomografija (CT), a osobito magnetska rezonancija (MR) ta je klasifikacija podvrgnuta stanovitim izmjenama (tablica 2).⁵⁻¹⁵

Na temelju histokemijskih svojstava citoplazme stanica hemalaun-eozinskom (H/E) i PAS (positive acid-Schiff) metodom, adenomi hipofize mogu se podijeliti na acidofilne, bazofilne i kromofobne. Za acidofilne adenome smatra se da luče hormon rasta (HR), za bazofilne da luče adrenokortikotropni hormon (ACTH), a za kromofobne da su endokrinološki neaktivni. Ova pojednostavnjena klasifikacija, prihvaćena kao dogma, dugo je dominirala patologijom hipofize. Uvođenjem imunohistokemijskih metoda pokazalo se da je klasifikacija temeljena na histokemijskim svojstvima citoplazme nepotpuna.

Na primjer, poznato je da acidofilni adenomi mogu sintetizirati prolaktin (PRL) i hormon rasta (HR) ili mogu biti hormonski neaktivni, da bazofilni adenomi nisu nužno povezani s prekomjernom proizvodnjom ACTH i da kromofobni adenomi mogu biti ili nefunkcionalni ili lučiti HR, PRL, ACTH ili α -podjedinice (α -SU), što može rezultirati hipersekretornim sindromom. Stoga, klasifikacija s obzirom na histokemijska svojstva citoplazme nije pogodna jer ne donosi podatke o cito-

Tablica 2. *Imaging/kirurška klasifikacija adenohipofiznih tumora*
Table 2. *Imaging/surgical classification of pituitary adenomas*

1. Lokacija/Location
1.1. Intraselarni/Intrasellar
1.2. Ekstraselarne ekstenzije (supraselarni, sfenoidni sinus, nazofarinks, kavernozi sinus) Extrasellar extensions (suprasellar, sphenoid sinus, nasopharynx, cavernous sinus)
1.3. Ektopični (rijetki)/Ectopic (infrequent)
2. Veličina/Size
2.1. Mikroadenomi/Microadenoma (≤ 10 mm)
2.2. Makroadenomi/Macroadenoma (> 10 mm)
3. Shema rasta/Growth
3.1. Ekspanzivni/Expansive
3.2. Jako invazivni u duru, živce ili mozak Severely invasive into dura, nerves or brain
3.3. Metastazirajući (kraniospinalni ili sistemski); rijetki Metastazing (craniospinal or systemic); infrequent

genezi, sadržaju hormona, građi stanica, endokrinološkoj aktivnosti i biološkom ponašanju tumora hipofize (tablica 3).¹⁶⁻²⁰

Trenutačne morfološko-funkcionalne klasifikacije temeljene su primarno na histološkim, imunocitokemijskim i ultrastrukturnim podacima. Mora se naglasiti da je iz svih vrsta stanica

Tablica 3. *Histološka klasifikacija tumora adenohipofize*
Table 3. *Histological classification of pituitary adenoma*

A. Adenomi/Adenomas
1. Tipičan adenom/Typical adenoma
2. Atipičan (polimorfizam, povećana mitotska aktivnost, visok MIB-1 indeks)/Atypical (polymorphism, increased mitotic activity, high MIB-1 index)
Ako se način rasta može procijeniti/If the way of growth can be assessed:
1. Ekspanzivni/Expansive
2. Histološki invazivan (prodor u kost, živce, krvne žile...) Histologically invasive (invasion in bone, nerves, blood vessels)
B. Karcinomi (metastaze i/ili invazija u okolni mozak) Cancer (metastases and/or invasion of surrounding brain)
C. Neadenomi/Non adenoma
1. Primarni i sekundarni tumori adenohipofize Primary and secondary tumors
– Postiradijacijski sarkomi/Postirradiation sarcoma
– Benigni tumori mekih tkiva/Benign soft tissue tumors
– Metastaze/Metastases
2. Hiperplazija adenohipofize koja nalikuje adenomu Adenoma-like pituitary hyperplasia
3. Cista Rathkeova žlijeba/Cyst of Rathke's groove
4. Limfocitni hipofizitis/Lymphocytic pituitaritis

adenohipofize moguć nastanak adenoma i da se svaki poznati hormon adenohipofize može lučiti iz stanica adenoma. Unutar glavnih tipova adenoma mogu se razlikovati klinički značajni podtipovi adenoma. Na primjer, somatotropni, laktotropni i kortikotropni adenomi mogu biti gusto ili rijetko zrnati te se pojavljivati u miješanom obliku. Kao pravilo, stanice adenoma mogu nalikovati svojim normalnim netumorskim dvojnicama. Imunohistokemijske metode omogućavaju viši stupanj funkcionalne diferencijacije.

Dok je imunoreaktivnost sinaptofizina i neuron-specifične enolaze česta u adenomima hipofize svih tipova, bojenje kromograninom primarno je značajka adenoma koji proizvode glikoproteinske hormone, luteinizirajući hormon (LH), folikul-stimulirajući hormon (FSH), tireostimulirajući hormon (TSH) i alfa-podjedinice (α -SU) plurihormonalnih tumora i nul-staničnih adenoma. Makar demonstracija specifičnih hormona u adenomima omogućava njihovu klasifikaciju, hormonalni imunofenotip endokrinološki funkcionalnih adenoma je često složeniji nego što sugerira klinička slika. To je posebno slučaj s adenomima koji produciraju HR među kojima su vrlo česti plurihormonalni primjerci s najčešćim fenotipovima: HR, PRL, TSH i α -SU.

Tu se dakle govori ponajprije o primarnim (klinički relevantnim) i sekundarnim imunoreaktivnostima. Zbog strukturalne homologije tumori koji proizvode HR i PRL kao i LH i FSH ne smatraju se plurihormonalnim (tablica 4).^{2,3}

Budući da su stanice u normalnoj netumorskoj adenohipofizi često uklopljene unutar tkiva adenoma, katkad je nemoguće odlučiti predstavlja li manja imunoreaktivnost neoplastične ili pomiješane normalne stanice. Površno ispitivanje diže učestalost plurihormonaliteta u adenomima hipofize pa je potreban kritički pristup u prosuđivanju.^{3,21}

Značajan broj adenoma hipofize stvara više od jednog hormona, koji se razlikuju u kemijskom sastavu i biološkoj aktivnosti. Najčešći primjer je HR-pozitivan adenom povezan s akromegalijom i adenom koji stvara PRL što također sadržava α -SU i/ili β -TSH. Takvi plurihormonalni adenomi mogu biti mono ili polimorfni, tj. mogu sadržavati jedan tip stanica koji

Tablica 4. Imunohistokemijska klasifikacija tumora adenohipofize
Table 4. Immunohistochemical classification of pituitary adenoma

Primarna imunoreaktivnost Primary immunoreactivity	Sekundarna imunoreaktivnost ^a Secondary immunoreactivity
A. GH	PRL, α -SU(f), TSH, FSH, LH (i)
B. PRL	α -SU(i)
C. GH i PRL	α -SU(f), TSH(i)
D. ACTH	LH, α -SU(i)
E. TSH	α -SU(f), GH, PRL(i)
F. FSH/LH/aSU	PRL, GH, ACTH(i)
G. plurihormonalna ^b plurihormonal	
H. hormonski imunonegativna hormone immunonegative	

^a – sekundarna hormonalna reaktivnost je često viđena. Makar većina nije klinički eksplicitirana, hormoni se biokemijski utvrđuju u krvi/Secondary hormonal reactivity is frequent. Although majority are not clinically expressed, hormones are determined in blood biochemically; ^b – kombinacije imunoreaktivnosti, najčešće su GH/PRL/TSH i/ili aSU. Druge kombinacije su rijetke, npr. ACTH-LH, GH-ACTH, PRL-TSH itd./Combinations of immunoreactivity, most frequent are GH/PRL/TSH and/or aSU. Other combinations are infrequent, e.g. ACTH-LH, GH-ACTH, PRL-TSH etc.; a-SU – alfa-podjedinica/ α -subunit; i – rijetko/infrequent; f – često/frequent

Tablica 5. Elektronskomikroskopska podjela adenoma hipofize na temelju ultrastrukturnih karakteristika tumorskih stanica
Table 5. Electron microscopy classification of pituitary adenoma based on ultrastructural characteristics of tumor cells

Tip tumora Type of tumor	Koristnost EM Usefulness of EM
<i>Hormon rasta/Growth hormone</i>	
1. Gusto zrnati/Dense granules	Ako je IR na HR snažna, obično spororastući/If IR is high to GH usually slowly growing
2. Rijetko zrnati/Sparse granules	Ako je IR na HR snažna, i citokeratinski antiserumi otkrivaju fibrozna tjelešca; agresivan If IR is high to GH and cytokeratin antisera reveal fibrous bodies; aggressive
<i>Prolaktin/Prolactin</i>	
3. Rijetko zrnati/Sparse granules	Ako je Golgijevo tijelo IR na PRL. Blago do umjereno povišene vrijednosti PRL If Golgi-body is IR to PRL. Mildly to moderately increased PRL
4. Gusto zrnati/Dense granules	Ako je PRL, IR jaka. Rijetka varijanta bez kliničkog značenja If PRL IR is high. Infrequent variant without clinical significance
<i>Hormon rasta i PRL/Growth hormone and PRL</i>	
5. Miješane HR i PRL-stanice Mixed GH and PRL cells	Obavezan za razlikovanje tumora zbog preklapanja imunohistokemijskih profila Obligatory for tumor differentiation due to overlapping of immunohistochemical profiles
6. Mamosomatotropne stanice Mamosomatotropic cells	
7. Acidofilne matične stanice Acidophilic stem cells	Spororastući 6 je sličan 1, dok 5 i 7 mogu biti agresivni Slowly growing 6 is similar to 1, while 5 and 7 can be aggressive
<i>ACTH</i>	
8. Gusto zrnati/Dense granules	Ako je bazofilni tumor IR na ACTH; obično mikroadenom If basophilic tumor is IR to ACTH; usually microadenoma
9. Rijetko zrnati/Sparse granules	Može biti nuždan ako je ACTH IR; vjerojatno agresivni makroadenom May be necessary if ACTH is IR; probably aggressive macroadenoma
10. Crookov stanični oblik/Crook cell form	Ako je ACTH IR; bez kliničkog značenja/If ACTH is IR; without clinical significance
11. TSH	Obavezan za dijagnozu ako postoji klinička slika ili IR na TSH nije značajna???
<i>FSH LH</i>	
11. Muški tip/Male type	
12. Ženski tip/Female type	
<i>Klinički nefunkcionalni/Clinically nonfunctional</i>	
13. Neokocitni/Null-cell	Obavezan za identifikaciju tipa tumora, ali nije nuždan za kliničko djelovanje, budući da 11–14 pokazuju preklapanje imunohistokemijski profila i slično biološko ponašanje Obligatory for identification of tumor type, but not necessary for clinical action, since 11–14 show overlapping of immunohistochemical profiles and similar biological behaviour
14. Onkocitni/Oncocytic	
<i>Adenomi nepoznatog staničnog podrijetla Adenomas of unknown cell origin</i>	
15. Tihi »kortikotropni« podtip 1 Silent »corticotropic« subtype 1	Ako je bazofilan, IR na ACTH te nema Cushingove bolesti. Morfološki se ne razlikuje od 8 If basophilic, IR to ACTH and there is no Cushing's disease. Morphologically not different from 8
16. Tihi »kortikotropni« podtip 2 Silent »corticotropic« subtype 2	Obavezan za prepoznavanje tog tipa tumora Obligatory for recognition of this type of tumor
17. Tihi adenom podtip 3 Silent adenoma subtype 3	Obavezan za dijagnozu Obligatory for diagnosis
18. Drugi (neklasificirani plurihormonalni kao funkcionalni HR+ TSH, PRL ACTH...) Other (nonclassified plurihormonal as functional GH+TSH, PRL ACTH...)	EM se predlaže za karakterizaciju fenotipa EM is proposed for phenotype characterization

EM – elektronski mikroskop/electron microscopy; IR – imunoreaktivnost/immunoreactivity

stvara više hormona i dvije ili više morfološki različitih tipova stanica od kojih neke stvaraju jedan ili više hormona.²² Tumori koji stvaraju više od jednog hormona mogu nastati i u ostalim endokrinim organima. Temeljem imunocitokemijskog, elektronskomikroskopskog, imunoelektronskomikroskopskog istraživanja, hibridizacije *in situ*, te istraživanja *in vitro* postalo je jasno da koncepcija »jedna stanica jedan hormon« nije valjana (tablica 5).^{2,23} Sa sve većim brojem protutijela na raspolaganju, otkriva se sve veći broj plurihormonalnih adenoma hipofize. Citogeneza plurihormonalnih adenoma je nejasna. Moguće je da je netumorska plurihormonalna stanica ili monohormonalna stanica neoplastičkom transformacijom postala sposobna stvarati jedan ili više hormona.^{24–26}

Odgovor vezan za rast tumora, biološko ponašanje i rezultat liječenja očekuje se od primjene molekularnih metoda. Premda se te metode primjenjuju u istraživačke svrhe, nekoliko nedavno razvijenih metoda pokazalo je da mogu pribaviti korisne podatke koji se tiču tumorske agresivnosti. Neke od tih metoda, uključujući nukleolame organizacijske regije, citometriju toka deoksiribonukleinske kiseline (DNA) te određivanje tumorskog ploediteta, nisu pokazale jasnu povezanost s ponašanjem tumora.

Istraživanje kromosomskih nepravilnosti, mutacija, onkogene i faktora rasta daje zanimljive podatke, no treba još utvrditi njihovo kliničko značenje. Spomenute metode su skupe i vremenski zahtjevne te nisu korisne kliničarima i patolozima i primjenjive u rutinskoj dijagnostici koja treba biti završena unutar tjedan dana.² Dvije takve nedavno uvedene imunocitokemijske metode zaslužuju pažnju; nukleolarna lokalizacija MIB-1, staničnog faktora proliferacije, koji se dokazuje u parafinskim, formalinom fiksiranim rezovima. To protutijelo je dostupno i relativno jeftino. Tumori s MIB-1 indeksom većim od 3% često su invazivni. Mora se naglasiti da postoji preklapanje između neinvazivnih, invazivnih i malignih tumora. Bez obzira na to što se ne mogu izvući jasni, definitivni zaključci, visok indeks mora upozoriti kliničara na mogućnost agresivnog ponašanja tumora. Takvi bolesnici zahtijevaju pažljivo praćenje.²⁷

Drugi važni marker je p53-imunoreaktivni protein koji u nekim, ali ne u svim slučajevima, upućuje na mutaciju p53-tumor-supresorskoga gena. U manjini invazivnih adenoma i kod svih karcinoma, p53 je imunoreaktivan.^{14,28} Kao i kod svih imunotehnika, teškoće uključene u određivanje p53-reaktivnosti uključuju prikupljanje tkiva, fiksaciju te primjenu brojnih, različitih metoda bojenja. Pozitivni nalaz p53-proteina u normalnom tkivu dodatno komplicira upotrebu. Također ne postoji suglasnost o značenju difuzne ili samo fokalne reaktivnosti. Usprkos svemu, ako se kritički procjenjuje, p53 je marker koji obećava. Spororastući, ekspanzivni, neinvazivni tumori su negativni na p53. Nema dokaza o tome ima li mutacija p53-gena ulogu u nastanku adenoma hipofize.

Definicija karcinoma hipofize kao lezije s dokazanim metastazama ne zadovoljava. Poznato je da stanični polimorfizam, abnormalnost jezgara, celularnost, krvarenje ili nekroza nisu pouzdani indikatori agresivnosti. U suprotnosti, veći tumori, makroskopska invazija, izražena mitotska aktivnost, visoki indeks MIB-1 te imunoreaktivnost na p53 povezani su s agresivnosti te lošijom prognozom liječenja.²⁹

Ovakav graduirajući pristup povremeno bi označio adenom hipofize s agresivnim, ali ne i s metastatskim potencijalom. S

druge strane, pružio bi dijagnozu maligniteta u vrijeme kada agresivna terapija još ima šansu za postizanje izlječenja.¹⁴ Ova zapažanja potvrđuju da je dijagnoza karcinoma hipofize moguća i u nedostatku udaljenih metastaza. Podupirući ovu koncepciju, moramo napomenuti da u slučajevima brzo rastućih, invazivnih makroadenoma, koji pokazuju neuobičajenu proliferativnu aktivnost, nije moguće točno odrediti razinu u kojoj faktori proliferacije i ostali indikatori agresivnog ponašanja pouzdano identificiraju maligne tumore, odnosno one s malignim potencijalom. Stoga je prije upotrebljavani pojam adenomi nejasnog malignog potencijala (adenoma of uncertain malignant potential – AUMP), zamijenjen u novoj klasifikaciji SZO-a terminom atipični adenom (tablica 6).^{2,3,14}

Klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije

Peterorazinska klasifikacija koju je prihvatio SZO praktična je, isplativa, uzima u obzir kliničke i patološke parametre, odražava naše znanje o bolesti, integrira sve raspoložive podatke, promovira daljnje istraživanje bolesti i zadovoljava znatiželju patologa.

Njezini osnovni elementi su:

1. Prva razina razlikuje tumor hipofize na temelju kliničke slike i koncentracije hormona u plazmi. Ovaj temeljni pristup je važan endokrinolozima. Premda su ti parametri klinički i biokemijski, a ne morfološki, oni predstavljaju izravni odraz strukturnih karakteristika tumora.^{30,31} Pritom patolog mora dobiti kliničke podatke prije postavljanja dijagnoze.

2. Druga razina temelji se na podacima dobivenim od neuroradioloških i operativnih nalaza. Uzimanje u obzir makroskopske karakteristike kao veličina tumora, širenje tumora te invazivnost tumora, značajno je u postavljanju dijagnoze i odlučivanju o daljnjem liječenju. Premda nisu jasno povezani s morfološkom aktivnošću, odnosno neizravno povezani s endokrinološkom aktivnošću, ovi parametri obično su odraz tipa tumora. Bez obzira na to što se klinički važni podaci o prisutnosti ili odsutnosti invazivnosti dobiju ponajprije neuroradiološki i kirurški, prije nego histološki (zbog oskudnog i nepotpunog materijala za biopsiju), određivanje agresivnosti tumora zahtijeva integraciju tih podataka.³²

3. Treća razina temelji se na pretraživanju uzorka tkiva svjetlosnim mikroskopom, upotrebljavajući hemalaun-eozinskom (H-E), Malloryjevu i PAS-metodu. Prvi zadatak patologa je ustvrditi radi li se o adenomu hipofize ili nekome drugom tumoru. Različite neoplastičke i neneoplastičke lezije zahvaćaju selarnu regiju te klinički nalikuju adenomima hipofize. U pravilu patolog može razlikovati adenom od drugog tumora upotrebom H-E-metode. Također uz neke iznimke kao što je npr. jaka acidofilija u manjini HR-pozitivnih adenoma, ne smatramo podjelu s obzirom na histološka svojstva citoplazme osobito korisnom.

Isto vrijedi i za PAS-metodu (dokazuje mukoidne stanice adenoma), usprkos pozitivnoj reakciji u ACTH-adenomima i koristi u nalaženju Crookove hijalinizacije u ekstratumorskom tkivu hipofize.^{2,33}

Nikakve nozološke razlike nisu postavljene između tipičnog adenoma hipofize i onih s citološkom atipijom, mitotskom aktivnošću i invazivnošću. No, prisutnost i opseg stanične i nukleolarne atipije, kao i mitotske aktivnosti, može se ustvrditi na H-E-rezovima. Kao što je napomenuto, mikroskopski nalaz duralne invazije manje je važan od radiološkog ili makroskopskog izgleda. No histološki dokaz invazije kostiju i sinusa je važan.

Posebno zahtjevni za dijagnozu su slučajevi hiperplazije hipofize, koja je praćena raznolikim znakovima i simptomima endokrine disfunkcije. Hiperplazija je multifazičan proces koji

Tablica 6. Klasifikacija adenoma hipofize s obzirom na mogući maligni potencijal

Table 6. Classification of pituitary adenoma regarding possible malignant potential

Karakteristike tumora Tumor characteristics	Adenom Adenoma	Adenom s mogućim malignim potencijalom Adenoma with possible malignant potential	Karcinom Cancer
mitoze mitoses	rijetke ili odsutne infrequent or absent	nekoliko a few	različito prisutne diversely present
MIB-1	negativan ili <3% negative or <3%	obično >3% usually >3%	obično visok usually high
<i>Imunoreaktivnost</i> <i>Immunoreactivity</i>			
p53	negativna negative	obično negativna usually negative	obično pozitivna usually positive
veličina tumora tumor size	mikro ili makro micro or macro	obično makro usually macro	makro macro
invazivnost invasiveness	moguća possible	vjerojatna likely	obavezna obligatory
metastaze	odsutne absent	odsutne absent	obavezna obligatory
hiperprodukcija hormona hormone hyperproduction	različita different	različita different	često visoka often high

se kreće od blagog povećanja broja jednog tipa stanica, što ne uzrokuje značajniji poremećaj normalne arhitekture hipofize, do masivne, nodularne hiperplazije koja rezultira razvlačenjem i stapanjem acinusa te povećanjem cijele žlijezde. Zbog normalnoga nejednolikog rasporeda određenih stanica hipofize te zbog fragmentiranoga kirurškog bioptičkog materijala teško je, a često i nemoguće, postaviti dijagnozu difuzne hiperplazije. Od posebnog kliničkog značenja su: 1) kortikotropna hiperplazija koja zahtijeva totalnu hipofizektomiju za liječenje Cushingove bolesti i 2) tireotropna hiperplazija. Ova potonja može nalikovati adenomu, no ne zahtijeva kirurško liječenje budući da reagira na supstituciju hormona štitnjače. Hiperplazija HR-pozitivnih stanica povezana je, ponajprije, s ektopičnim stvaranjem HR-oslobađajućeg hormona. Hiperplazija PRL-pozitivnih stanica, kao posljedica bilo kojeg neoplastičnog ili neneoplastičnog procesa u supraselarnoj regiji ili unosa estrogena, jest učestala. Idiopatski oblik je iznimno rijedak te nije od kliničkog značenja. Hiperplazija stanica sa sekrecijom gonadotropnih hormona iznimno je rijetka.^{1-3,21,22,25,31}

4. Četvrta razina se trenutno smatra jednom od najvrjednijih dijelova klasifikacije (tablica 4). Upotrebom imunocitokemije može se pouzdano odrediti koje hormone stvaraju tumori te se može ustanoviti tumorski marker i usporediti s kliničkom slikom i razinom hormona u krvi. Premda se imunopozitivnost izjednačuje sa sadržajem hormona, mora se naglasiti da ne korelira nužno s brzinom proizvodnje i oslobađanja hormona. Mora se paziti i na brojne zamke koje sadržavaju imunocitokemijske metode. Optimalna fiksacija tkiva te njegova obrada najvažniji su u dobivanju pouzdanih rezultata uz obaveznu test-kontrolu svake reakcije. Određen broj antiseruma prisutnih na tržištu, posebice onih poliklonalnih, pokazuje preklapanje s antigenima ostalih hormona. Pitanje specifičnosti hormonske imunoreaktivnosti od temeljne je važnosti. Stoga se moraju pažljivo provoditi odgovarajuće metode kontrole. Budući da su skupe i zahtijevaju vremena, ne izvode se često u laboratorijima. Važno je shvatiti da imunopozitivnost dokazuje prisutnost antigena, ali nedostatak imunopozitivnosti ne dokazuje odsutnost antigena. Samo kada se upotrebe odgovarajuće pozitivne i negativne metode kontrole dobivaju se pouzdani dokazi da nalazi imunoreaktivnosti potvrđuju prisutnost određenih antigena u tkivu.² Oprez je također potreban jer se unutar tumorskog tkiva mogu naći i netumorske stanice adenohipofize. Premda su u većini slučajeva normalne stanice adenohipofize prisutne na periferiji tumora, u određenom broju slučajeva one se nalaze duboko unutar adenoma. U tim je slučajevima nemoguće razlučiti da li te imunopozitivne stanice pripadaju tumorskim ili normalnim stanicama. Nepažljiva istraživanja, stoga, povećavaju učestalost plurihormonalnosti u adenomima hipofize. Uzevši u obzir sve ove zamke u imunocitokemijskoj analizi, kritički pristup je nuždan u interpretaciji rezultata.

Hibridizacija *in situ* za adenome hipofize, premda još uvijek upotrebljavana kao istraživačko pomagalo, može se upotrijebiti kao potpora imunocitokemijskim nalazima, dokazujući specifični mRNA u istim rezovima tkiva. Ovo je važno jer se u određenim slučajevima protein hormona ne može dokazati, premda je njegova mRNA jasno pozitivna u hibridizaciji *in situ*.

5. Peta razina temelji se na ultrastrukturnim karakteristikama tumorskih stanica. Ovaj dio klasifikacije vrlo je sofisticiran i vrijedan.

Daje zaključne podatke o građi tumorskih stanica, stupnju diferencijacije, endokrinološkoj sintetskoj aktivnosti te daje podatke o staničnome podrijetlu. Brojne citomorfološke karakteristike adenoma, od dijagnostičkog značenja, jasno su vidljive na ultrastrukturnoj razini. To uključuje ne samo detaljnu gra-

ničnu morfologiju nego i ostale karakteristike kao što su relativno mnoštvo, distribucija i morfologija organela koja je različito izražena u svakom adenomu (grubi endoplazmatski retikulum, Golgijevo tjelešće, mitohondriji) te prisutnost ili odsutnost karakteristika povezanih s određenim podtipom adenoma, kao npr. mikrofilamenti, centriole, fibrozna tjelešca, cilije, mikrovile i međustanične veze. Odlaganje depozita, što je karakteristika laktotropnih adenoma, rijetko je i vidljivo samo elektronskim mikroskopom (EM). Ultrastrukturna istraživanja su ključ u određivanju činjenice je li tumor monomorfan ili plurimorfan, tj. je li građen od jednog ili više tipova stanica. Praktična korist elektronskog mikroskopa je očita. Vrijeme od nekoliko dana, koliko je potrebno za analizu, nije problem jer je dijagnoza adenoma hipofize već ionako postavljena.^{2,3}

Glavni problem kod upotrebe EM je mala veličina uzorka. U većini slučajeva analizira se mali broj stanica. Zbog ograničenja ili neodgovarajućeg skupljanja uzorka, tumorsko tkivo može biti i ne mora biti prisutno u uzorku. Promatrajući pojedinačne stanice, ne može se razlučiti da li se radi o normalnim ili adenomskim stanicama. Također promjene na kojima se bazira dijagnoza ne moraju biti reprezentativne ili mogu nedostajati. Važno je napomenuti da EM ne može razlučiti je li tumor dobroćudan ili zloćudan te je li brzorastući i ima li invazivni potencijal.^{2,14} Također je važno da se dijagnoza hiperplazije rijetko može postaviti EM-om. Imunoelektronski mikroskop omogućuje dokazivanje jednog ili više hormona na citološkoj ultrastrukturnoj razini. Posebno se rabi u istraživanju plurihormonalnosti budući da zaključno pokazuje postoje li različiti hormoni u istim ili različitim stanicama. Trenutačno je ova sofisticirana metoda istraživačko pomagalo koje ne igra nikakvu ulogu u rutinskoj, dijagnostičkoj patologiji.

Zaključak

Preporučujemo da, kad god je moguće, zaključni izvještaji o tumorima hipofize sadržavaju podatke vezane za svih pet razina predložene klasifikacije. Svaki dio je važan i daje upotrebljiv dijelac informacije o dijagnozi i/ili biološkom ponašanju tumora. Takvi su podaci od pomoći u prosudbi načina daljnjeg

Tablica – Table 7. Oblik izvještaja / Type of report

Ime bolesnika, dob, spol/Patient's name, age, gender
Lokalizacija tumora: sela, desni kavernozi sinus
Tumor localization: sella, right cavernous sinus
1. Gigantizam i akromegalija/Gigantism and acromegaly
2. Makroadenom, invazivni/Macroadenoma, invasive
3. Adenom hipofize, tipični/Pituitary adenoma, typical
4. Hormon rasta, prolaktin, α -SU/Growth hormone, prolactin, alpha-SU
5. Gustozrnati somatotropni adenom/Dense granule somatotropic adenoma

liječenja i prognoze. Protokol kratkog izvještaja koji definira određeni tumor hipofize prikazan je na tablici 7.²

Podaci o kliničkim, biokemijskim, neuroradiološkim i operativnim parametrima, povezani s histološkim nalazom čine temelj kod postavljanja dijagnoze i planiranja daljnjeg liječenja. Proliferativna aktivnost ili inaktivnost tumor-supresorsko-gena p53 koristi i upućuje na biološko ponašanje tumora i može imati prognostičko značenje.

U posljednje vrijeme, novije molekularno-biološke tehnike, od kojih se određeni broj primjenjuje u tumorima hipofize, pomažu u boljem razumijevanju njihove biologije i patofiziologije, npr. hibridizacija *in situ*, Northern i Southern blot tehnike i PCR. Tumori hipofize mogu se istraživati u uvjetima *in vitro*, što omogućava promatranje učinka različitih lijekova i hormona na tumorske stanice. Prisutnost hormona u mediju može se

mjeriti radioimunološki, a i oslobađanje hormona iz pojedinačnih stanica može se dokumentirati. Citogenetičke, protočnometrijske, kompjutorske analize, kao i istraživanja onkogenih, faktora rasta, proliferativnih faktora i hormonskih receptora trenutačno se ne primjenjuju u rutinskoj dijagnostici.

LITERATURA

1. *Asa S, Ezzat S.* The cytogenesis and pathogenesis of pituitary adenoma. *Endocrine Rev* 1998;19:798–827.
2. *Kovacs K, Scheithauer B, Horvath E, Lloyd R.* The World Health Organization Classification of Adenohypophysial Neoplasms. A Proposed Five-Tier Scheme *Cancer* 1996;78:502–10.
3. *Solcia E.* Hystological Classification of Endocrine Tumours. Berlin: Springer; 2000, str. 15–29.
4. *Hardy J.* Transsphenoidal surgery of hypersecreting pituitary tumors, U: Kohler PO, Ross GT ur. *Diagnosis and Treatment of Pituitary Tumors.* Amsterdam: Excerpta medica 1973:179–94.
5. *Knosp E, Steiner E, Kitz K, Matula C.* Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery* 1993;33:610–8.
6. *Cottier JP, Destrieux C, Brunereau L i sur.* Cavernous sinus invasion by pituitary adenoma: MR imaging. *Radiology* 2000;215:463–9.
7. *Destrieux C, Kakou M, Velut S, Lefranco T, Jan M.* Microanatomy of the hypophyseal fossa boundaries. *J Neurosurg* 1988;88:743–52.
8. *Gnjidić Ž.* Evaluacija kliničkih, radioloških i laboratorijskih parametara kod akromegaličnih bolesnika operiranih transsphenoidalnim pristupom. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1994.
9. *Scheithauer B, Kovacs K, Laws E, Randall R.* Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J Neurosurg* 1986;65:733–44.
10. *Schreiber S, Seager W, Ludecke DK.* Proliferation markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas. *Pituitary* 1999;1:213–20.
11. *Muller W, Saeger W, Wellhausen L, Derwahl KM, Hamacher C, Ludecke DK.* Markers of function and proliferation in non-invasive and invasive bi- and plurihormonal adenomas of patients with acromegaly: an immunohistochemical study. *Pathol Res Pract* 1999;195:595–603.
12. *Meij B, Lopes MB, Ellagala D, Alden T, Laws E.* The long-term significance of microscope dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transsphenoidal surgery. *J Neurosurg* 2002;96:195–208.
13. *Lubke D, Saeger W.* Carcinoma of the pituitary: definition and review of the literature. *Gen Diagn Pathol* 1995;141:81–92.
14. *Pernicone P, Scheithauer B, Sebo T i sur.* Pituitary Carcinoma, a clinicopathologic study of 15 Cases. *Cancer* 1997;79:804–12.
15. *Scheithauer B, Fereidooni F, Horvath E i sur.* Pituitary carcinoma: an ultrastructural study of eleven cases. *Ultrastruct Pathol* 2001;25(3):227–42.
16. *Sautner D, Saeger W, Ludecke DK.* Tumors of sellar region mimicking pituitary adenomas. *Exp Clin Endocrinol* 1993;101:283–9.
17. *Vrkljan M, Talan-Hranilović J, Gnjidić Ž i sur.* Diabetes Insipidus as the initial symptom in a patient with lung cancer – case report. *Acta Clin Croat* 1998;37:35–40.
18. *Thapar K, Kovacs K, Horvath E.* Morphology of the pituitary in health and disease. U: Becker KL, ur. *Principles and practice of endocrinology and metabolism.* Philadelphia: Lippincott; 1995, str. 103–29.
19. *Fehn M, Sommer C, Ludecke DK, Plockinger U, Saeger W.* Lymphocytic Hypophysitis: Light and Electron Microscopic Findings and Correlation to Clinical Appearance. *Endocr Pathol* 1998;9:71–8.
20. *Vizner B, Talan-Hranilović J, Gnjidić Ž i sur.* Lymphocytic adenohypophysitis simulating a pituitary adenoma in pregnant woman. *Coll Antropol* 2002;26:641–50.
21. *Sanno N, Teramoto A, Osamura RY i sur.* Pathology of pituitary tumors. *Neurosurg Clin N Am* 2003;14:25–39.
22. *Talan-Hranilović J, Gnjidić Ž, Sajko T, Vizner B, Vrkljan M.* Comparative immunohistochemical analysis of estrogen receptor and chromogranin-A reactivity in plurihormonal human prolactinomas. *Acta Med Croat* 2002;36:59–63.
23. *Gnjidić Ž, Vizner B, Rešetić J i sur.* The effect of TRH in vivo and TRH, AVP, LH-RH and cortisol in vitro on hormone secretion from nonfunctioning pituitary adenomas. U: 11th European Congress of Neurosurgery European Association of Neurosurgical Societies (EANS). Copenhagen: Monduzzi 1999;283–8.
24. *Asa SL.* The pathology of pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:13–43.
25. *Ho MD, Hsu CY, Ting LT, Ciang H.* Plurihormonal pituitary adenomas: Immunostaining of all pituitary hormones is mandatory for correct classification. *Hystopathology* 2001;39:310–9.
26. *Jouanneau E, Ducluzeau PH, Tilikete C, Borson-Chazot F, Trouillas J, Perrin G.* Should silent corticotroph-cell adenoma be classified as a non-function pituitary adenoma? *Neurochirurgie* 2001;47:128–32.
27. *Kovacs K, Horvath E.* The differential diagnosis of lesions involving the sella turcica. *Endocr Pathol* 2001;12:389–95.
28. *Thapar K, Scheithauer B, Pernicone P, Laws E.* p53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fractions. *Neurosurgery* 1996;38:765–71.
29. *Thapar K, Kovacs K, Scheithauer B i sur.* Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996;38:99–107.
30. *Kobayashi I, Oka H, Naritaka H, Sato Y, Fujii K, Kameya T.* Expression of Pit-1 and growth hormone-releasing hormone receptor mRNA in human pituitary adenomas: Difference among functioning, silent, and other nonfunctioning adenomas. *Endocr Patol* 2002;13:83–98.
31. *Saeger W, Wilczak W, Ludecke D, Buchfelder M, Fahlbusch R.* Hormone markers in pituitary adenomas: changes within last decade resulting from improved method. *Endocr Pathol* 2003;14:49–54.
32. *Yokoyama S, Hirano H, Moroki K, Goto M, Imamura S, Kuratsu J.* Are nonfunctioning pituitary adenomas extending into the cavernous sinus aggressive and/or invasive? *Neurosurgery* 2001;49:857–63.
33. *Kovacs K, Horvath E, Vidal S.* Classification of pituitary adenomas. *J Neurooncol* 2001;54:121–7.

BIOKEMIJSKI POKAZATELJI PREGRADNJE KOSTI – KLINIČKA PRIMJENA I OGRANIČENJA

BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE TURNOVER – CLINICAL APPLICATION AND LIMITATIONS

VESNA KUŠEĆ*

Deskriptori: Kostni – metabolizam; Biološki markeri – analiza; Koštana pregradnja

Sažetak. Biokemijski pokazatelji koštane pregradnje su pretrage koje upućuju na aktivnost koštanih stanica osteoblasta i osteoklasta. Osteoklasti razgrađuju koštano tkivo, pri čemu se dijelovi kolagena tipa I iz kosti (piridinolini, telepeptid) otpuštaju u izvanstaničnu tekućinu i dospijevaju u krv ili mokraću. Osteoblasti stvaraju bjelančevine međustanične koštane tvari, a od

* Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb, Zagreb (doc. dr. sc. Vesna Kušec, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. V. Kušec, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

Primljeno 28. listopada 2004., prihvaćeno 10. ožujka 2005.