

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Neurochirurgická klinika
Fakultní nemocnice Hradec Králové**

Disertační práce

Téma:

Biologické vlastnosti afunkčních adenomů hypofýzy

Autor: MUDr.Česák Tomáš

Školitel: Doc.MUDr.Náhlovský Jiří, CSc.

Hradec Králové 2009

Poděkování:

Děkuji přednostovi Neurochirurgické kliniky v Hradci Králové Doc.MUDr.Náhlovskému, CSc. za vše, co jsem se od něho mohl za dobu mého působení na pracovišti naučit. Mou odbornou subspecializací se pod jeho dohledem stala chirurgie oblasti tureckého sedla. Na tomto poli mi předal mnoho ze svých cenných vědomostí a zkušeností a významně tak přispěl k mému odbornému růstu. Zároveň mu patří poděkování jako mému odbornému školiteli při vedení postgraduálního studia.

Děkuji svým dalším spolupracovníkům, bez jejichž pomoci bych se při své doktorandské práci neobešel. Především Doc.MUDr.Cermanovi, CSc. a prof.MUDr.Němečkovi, DrSc., kteří mi byli nápomocni při imunohistochemickém hodnocení preparátů a velkou měrou tak přispěli k rozšíření mých vědomostí v této oblasti. Můj dík patří i celému technickému zázemí Neurohistopatologické laboratoře, zvláště paní Kopecké za pečlivou přípravu histologických preparátů a ing. Šubovi za vydatnou pomoc při počítačovém zpracování výsledků celé práce.

Děkuji rentgenologovi MUDr.Ryškovi, Ph.D. za cennou spolupráci v oblasti grafického hodnocení pooperačních reziduí adenomů, dále Ing. Bukačovi, MS Ph.D. za významnou pomoc se statistickým zpracováním získaných dat.

Zvláštní dík patří celé mé rodině za podporu, pochopení a trpělivost, s kterou mi umožnili tuto práci dokončit.

Obsah:

Abecední seznam zkratk:	4
1. Úvod	5
1.1. Historické poznámky	5
1.2. Epidemiologie hypofyzárních adenomů	6
1.3. Principy tumorigeneze	7
1.4. Patologické aspekty nádorů hypofýzy	7
1.5. Klinicko-patologické rozdělení novotvarů hypofýzy	11
1.6. Lokalizace, způsob růstu a invazivita adenomů	13
1.7. Klinická symptomatologie afunkčních hypofyzárních adenomů	15
2. Současný pohled na problematiku afunkčních adenomů hypofýzy	19
2.1. Zobrazovací metody selárních patologií	19
2.2. Grafické klasifikace adenomů hypofýzy	22
2.3. Léčba afunkčních adenomů hypofýzy	25
2.3.1. Operační přístupy	26
2.3.2. Problematika radikality operačního výkonu, reoperací u recidiv nebo reziduí.	31
2.3.3. Radioterapie a radiochirurgie	33
2.4. Růstová aktivita adenomů hypofýzy. Přehled poznatků o markerech proliferace a onkogeneze.	36
3. Předpoklady a cíle studie:	40
4. Vlastní soubor operovaných pacientů	42
4.1. Metodika:	42
4.2. Materiál:	44
4.3. Výsledky	45
4.4. Diskuze	51
5. Imunohistochemická část – marker proliferace Ki-67	56
5.1. Metodika	56
5.2. Materiál	59
5.3. Výsledky	60
5.4. Diskuze	62
6. Souhrn výsledků	64
7. Závěr	65
8. Literatura	67

Abecední seznam zkratk:

AAH	afunkční adenom hypofýzy
ACTH	adrenokortikotropní hormon
CK-18	kreatinkináza
COX-2	cyklooxygenáza
CT	computerová tomografie
EGF	epiteliální růstový faktor
GHDA	syndrom deficitu somatotropního hormonu
GNRH	hormon uvolňující gonadotropin
H-ras, C-myc	protoonkogeny
HS	metoda „hot spots“ odečtu Ki-67
IMRT	radioterapie s modulovanou intenzitou
LGN	Leksellův gama nůž
LH	luteinizační hormon
MEN-1	syndrom mnohočetné endokrinní neoplázie
MIB-1	mitotický index antigenu značeného pomocí protilátky
MMP	metaloproteináza
MR	magnetická rezonance
MRA	MR angiografie
Nm23, Rb	tumorsupresorové geny
PCNA	proliferační nukleární antigen
PEEP	pozitivní tlak na konci expiria
PRL	prolaktin
SF-1	steroidogenní faktor
SM	softwarová metoda odečtu Ki-67
STH	somatotropin
TSH	tyreostimulační hormon
TVDT	čas předpokládaného zdvojení objemu adenomu
UPA	urokináza

1. Úvod

1.1. Historické poznámky

Již Descartes označil mozek ve své práci v 17. století jako integrující orgán mezi myslí a tělem. Tato představa byla dále rozvíjena v 19. století Zanderem, který popsal souvislosti mezi funkcí nadledvin a mozkiem. V roce 1849 demonstroval Claude Bernard u traumat v oblasti IV. komory poruchy osmoregulace s polyurií a glykosourií. Na tuto práci navázala v druhé polovině 19. století řada autorů studující vzájemné vazby hypotalamo-pituitárního systému jako zdroje důležitých osmoregulačních substancí. Oblast tureckého sedla přitahovala zájem chirurgů asi od přelomu 19.-20. století, kdy se podařila dát do souvislosti některá systémová onemocnění s porušenou funkcí podvěsku mozkového. První poznatek o chorobách hypofýzy byl publikován v roce 1886, kdy Pierre Marie popsal akromegalii. V roce 1900 předpokládal Benda konkrétní příčinu akromegalie v eosinofilním adenomu hypofýzy [Laws 1979].

První operaci hypofyzárního adenomu uskutečnil transkraniální, subtemporální cestou sir Victor Horsley v roce 1889, následován o 4 roky později Catonem a Paulem. Tyto první transkraniální výkony však byly zatíženy vysokou mortalitou, která dosahovala 60 až 80% [Cushing 1932]. Proto se neurochirurgové začali soustřeďovat na méně invazivní, extrakraniální přístupy do tureckého sedla. První úspěšný trassfenoidální výkon z laterální rhinotomie je připisován rakouskému otorinolaryngologovi Schlofferovi v r.1907. Při svém přístupu si počínal poměrně razantně, odklápěl nos a otevíral čelistní dutinu, pronikal i přes čichové sklípky. První sublabiální přístup ve střední čáře s resekcí nosní přepážky byl v roce 1909 proveden Kanavelem, nezávisle a obdobně i Kocherem. V letech 1910 - 1925 propracoval Harvey Cushing v Bostonu k vysoké úspěšnosti bezpečnější rinoseptální středočarový přístup do sedla přes klínovou dutinu. Tímto šetrnějším operačním přístupem docílil na svou dobu poměrně nízké mortality 3-4% [Decker 1976]. Dalším význačným průkopníkem extrakraniální operační techniky se stal v této době vídeňský otorinolaryngolog Hirsch. Později tuto operační techniku přejala řada významných chirurgů, jmenovitě Eiselberg, Halstead nebo Hochenegg. Paralelně v roce 1912 úspěšně použil intrakraniální transfrontální přístup k hypofýze Frazier. Přes tento úspěch byl transkraniální přístup v této době méně užívanou technikou a stál v pozadí upřednostňovaných transnazálních výkonů. Od třicátých let začala popularita extrakraniálních přístupů pozvolna klesat. Byly sice stále považovány za přístupy šetrnější, ale často nepostihly nádor hypofýzy v celém rozsahu a byly

tak zatíženy větším počtem recidiv. K této vlně přiklánějící se k radikálnějšímu transkraniálnímu výkonu se hlásil právě Cushing, jehož názor měl tehdy mezi odbornou veřejností velkou váhu. Období po druhé světové válce přineslo i další indikační možnosti v pituitární chirurgii. Hypofyzektomie byla prováděna u nemocných s disseminovanými, hormonálně senzitivními tumory, především prsu a prostaty. Renesanci extrakraniálních výkonů v hypofyzární chirurgii opět přinesla až šedesátá léta 20.století. Byla podporována řadou významných osobností snažících se pomocí moderní techniky zlepšit zrakovou kontrolu výkonu. V roce 1963 Guiot operoval poprvé adenom hypofýzy s rentgenovým zesilovačem, o 5 let později i s endoskopem. Jeho žák Jules Hardy v roce 1968 začal k transsfenoidálním operacím používat mikroskop, čímž se stal operační výkon přehlednější a zároveň bezpečnější [Fusek 1986].

V našich krajích byl za průkopníka transnazální Cushingovy techniky považován v roce 1922 Přecechtěl, o rok později jej následoval Kutwirt. Na jejich práci v hypofyzární chirurgii později úspěšně navázali Černý, Petr, Kunc a dále Fusek.

1.2. Epidemiologie hypofyzárních adenomů

Pituitární adenomy reprezentují v klinických sestavách 10-15% všech intrakraniálních tumorů. Jejich skutečný výskyt však není literárně znám, pravděpodobně je však častější. Svým nenápadným klinickým projevem často unikají pozornosti a jsou tak diagnostikovány náhodně. V bezvýběrovém sekčním materiálu dospělých osob byla přítomnost asymptomatických mikroadenomů hypofýzy, tzv. incidentalomů, odhalena až ve 27% případů s 41% imunohistochemickou detekcí prolaktinových elementů [Burrow 1981]. Hypofyzární adenomy se vyskytují nejčastěji ve 3.- 4. životní dekádě. Vzácně jsou diagnostikovány u dětí a adolescentů (2-10% všech adenomů) [Dyer 1994, Abe 1998]. Jen asi 2 – 2,6% z celkového počtu adenomů je zastoupeno u populace mladší 17 let [Dyer 1994], přibližně 6% adenomů se vyskytne před dvacátým rokem věku [Mindermann 1995]. U populace starší 65 let patří pituitární tumory mezi třetí nejčastější intrakraniální neoplazmata. U věkové skupiny přes 80 let byly v náhodném sekčním souboru adenomy přítomny ve 13% případů [Kovacs 1980].

Prevalence pituitárních adenomů je v celé populaci odhadována na 20 případů/100000 obyvatel. Incidence kolísá mezi 1,5 – 2 novými případy/100000 obyvatel/ 1 rok. Mezi nemocnými s hormonálně aktivními adenomy převažují i díky četnosti prolaktinomů ženy, a to v poměru 2 : 1. Afunkční adenomy hypofýzy tvoří asi jen 25-40% všech nádorových afekcí hypofýzy [Asa1992, Horvath 1992, Nistor 1996]. Vznikají spíše v pozdějším věku

nemocného s maximem ve 4.-5. dekádě s lehkou převahou u mužů [Thapar-Wilkins 1996, Kovacs 2001]. Vzácně je přítomnost adenomů sdružena se syndromem mnohočetné endokrinní neoplázie typu 1 (MEN - 1). Tato pluriglandulární adenomatóza je typická současnou přítomností adenomů jak v hypofýze, tak i v jiných žlázách s vnitřní sekrecí. V podvěsku mozkovém jde obvykle o mikroadenomy secernující somatotrofin a prolaktin.

1.3. Principy tumorigeneze

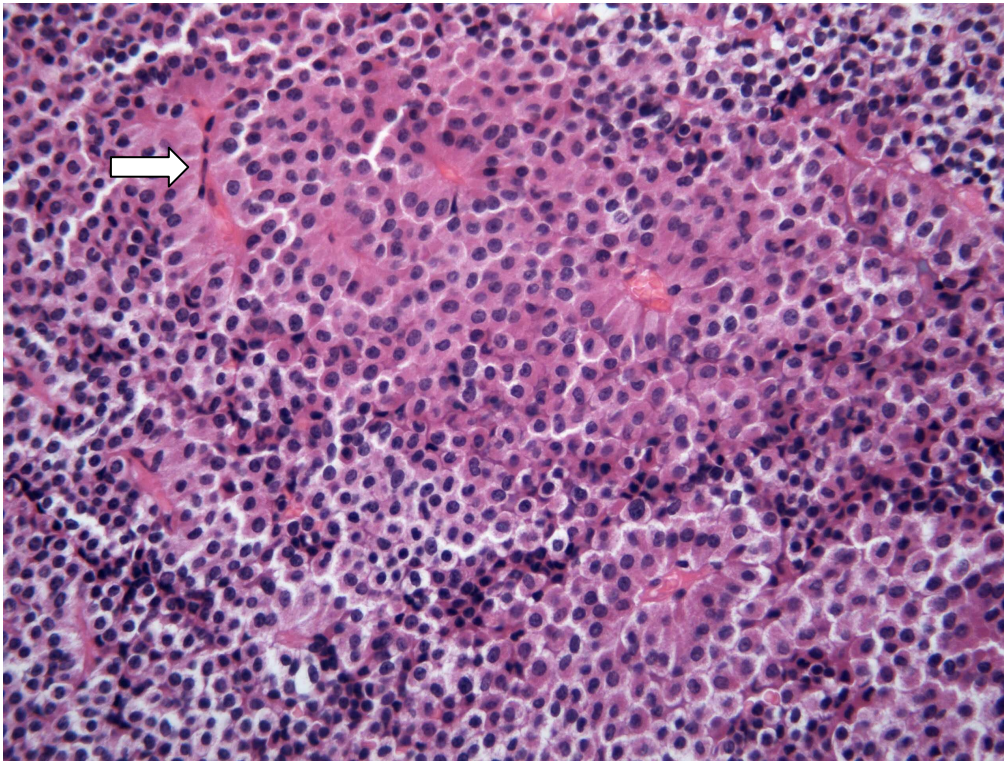
Pituitární adenomy jsou považovány za benigní, pomalu rostoucí tumory parenchymatózních adenohipofyzeálních buněk. Jsou histologicky velice rozmanité, což ilustruje cytodiferenční schopnosti hypofýzy. Současný náhled na tumorigenezi v sobě sdružuje dvě původně konkurující teorie. První názor se při vysvětlení vzniku adenomů opíral o stimulační hypothalamickou roli hypofyzeotropních faktorů. Druhý model spíše preferoval úlohu primárně molekulární poruchy samotné hypofýzy s důrazem na klonální charakter adenomů [Levy 2003]. Moderní teorie sdružuje oba tyto principy a ze vzniku adenomů tak viní molekulární a genetické změny se spoluúčastí stimulujících hormonálních vlivů. Proces vícestupňové tumorigeneze je doplněn interakcí mnoha růstových faktorů a jejich receptorů [Farrell 2003, Ezzat 2001]. Genetický vliv na rozvoj adenomu je přitom považován za častěji se uplatňující princip, kdy je genetická mutace prvotní příčinou. Mutované buňky jsou potom citlivější na působení hypofyzeotropních faktorů hypotalamu [Lloyd 2001]. Další klonální expanze mutovaných buněk vede ke vzniku adenomu [Farrell 2003]. Prvotně se může rovněž angažovat porucha humorálních regulací, což má za následek hyperplázii určitého buněčného typu. Ta je potom náchylnější ke vzniku mutačních genetických změn s rozvojem buněčného klonu. Konkrétně u hormonálně afunkčních adenomů hypofýzy (gonadotrofinomy, adenomy z nulových buněk a onkocytomy) představuje mutace steroidogenního faktoru (SF-1) poruchu diferenciaci gonadotropní buněčné linie, což může mít za následek formování nádoru nebo modifikaci typu sekrece [Asa 1992, Kleihues 2002, Cerman 2004].

1.4. Patologické aspekty nádorů hypofýzy

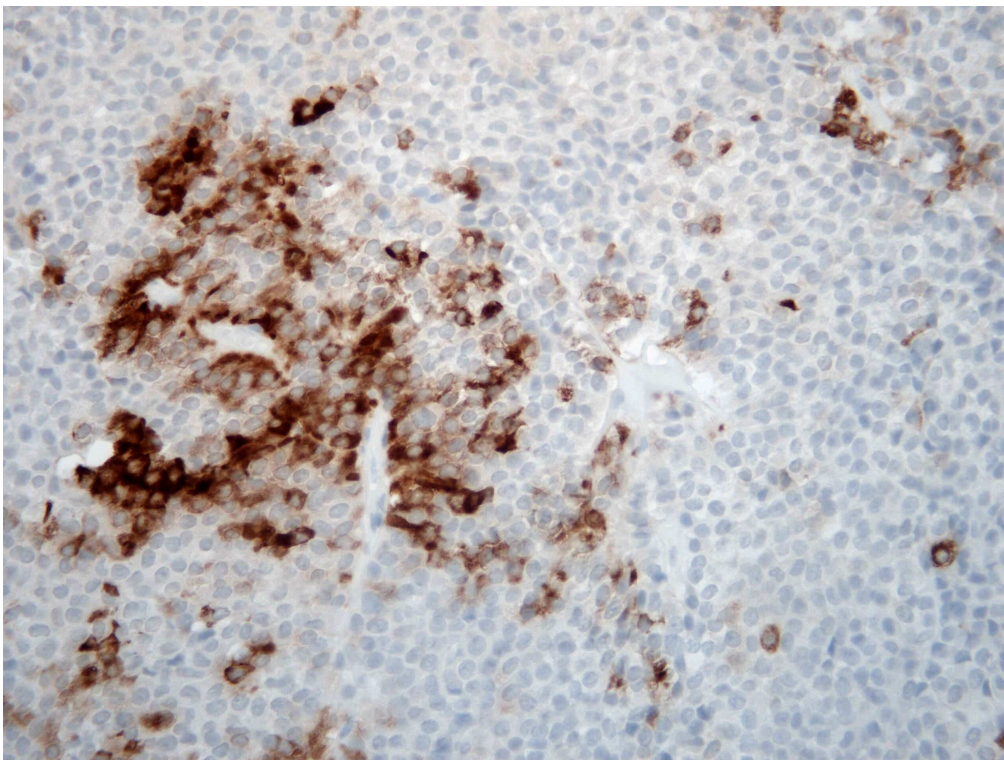
V histopatologickém obraze je pro hypofyzární adenom typická ztráta původního uspořádání adenohipofýzy s rozmanitou architekturou jednotlivých elementů [DeLellis 2004]. Zpravidla je přítomno řídké stroma se širokými kapilárami s množstvím uniformních sekrečních buněk. V místech pseudokapsuly na hranici s buňkami normální adenohipofýzy mohou být patrné architekturní změny imitující hyperplázii. Rozmanitý bývá rovněž obraz

hlavních partií nádoru, který není specifický pro jednotlivé typy adenomů. V zásadě je rozlišováno několik typů buněčného uspořádání [DeLellis 2004]. Často bývá pozorován difuzní buněčný obraz monomorfních buněk epitelového charakteru s jadernou pleomorfií, někdy mají partie adenomu acinární vzhled s drobnými koloidními cystami. Trabekulární uspořádání se vyznačuje spojenými buněčnými hřebeny, papilární architektura je typická přítomností dlouhých buněčných výběžků. Dále bývají pozorovány perivaskulární pseudorozetovité formace nebo jsou buňky seřazeny sinusoidně [Burger 2002]. Rozlišení histologického obrazu má význam především pro diferenciální diagnostiku centrálně uložených patologických lézí, které mohou adenom svou lokalizací, růstem i klinickými projevy imitovat. Histologickou diagnostiku ztěžuje i skutečnost, že v preparátu je přítomno množství druhotných změn jako jsou hemoragie, nekróza, kalcifikace nebo zánět.

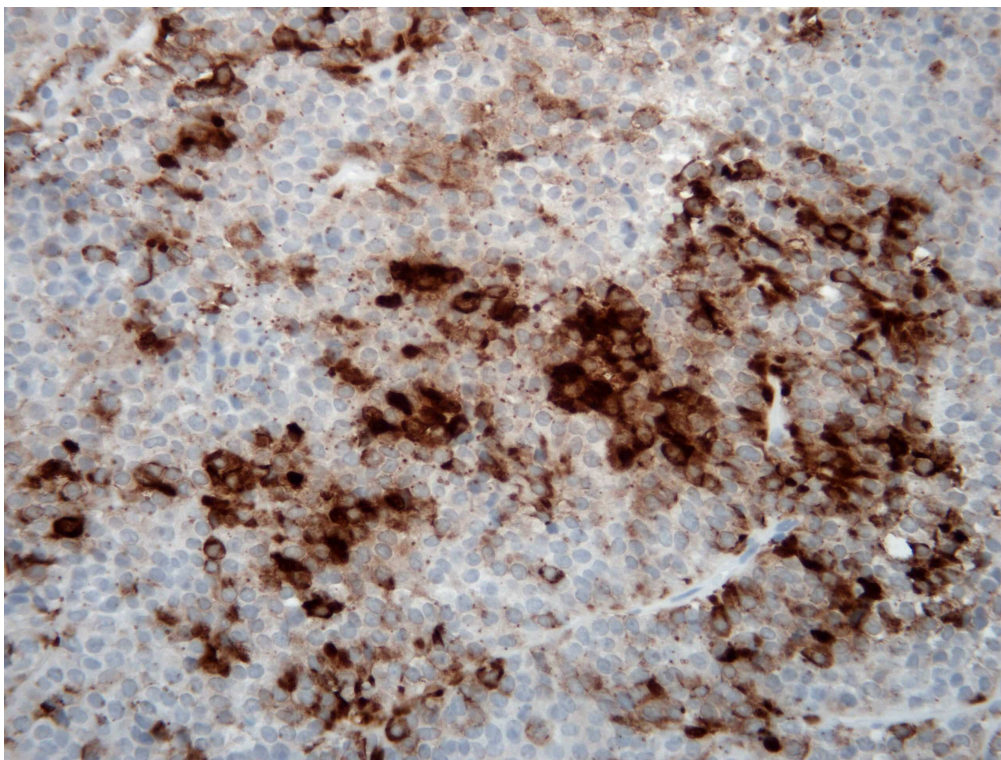
Klasická histologická technika využívající tinkčních vlastností adenohipofyzárních buněk (acidofilie, bazofilie, chromofóbie) patří stále k základním kamenům diagnostiky pituitárních lézí. Barvení hematoxylin-eosin s formalinovou fixací tkáně na parafinovém podkladě je považováno za zlatý standard pituitární histopatologie. Tato konvenční technika umožňuje spolehlivě stanovit morfologickou diagnózu, dále poskytuje informaci o celulárním a nukleárním pleomorfismu, mitotické aktivitě, vaskularizaci a stromálních alteracích. Její limitace spočívá v nemožnosti korelovat morfologické známky se sekretorickou aktivitou [Kovacs 2001]. Elektronová mikroskopie jako nesespecifická metoda našla v tomto oboru rovněž své uplatnění, a to zvláště při ultrastrukturální verifikaci v jednotlivých případech (smíšený prolaktinom s STH sekrecí). V posledních letech jsou tyto metody doplňovány vysoce citlivými a zároveň specifickými imunohistochemickými metodami. Ty jsou založeny na průkazu cytoskeletálních antigenů, jejichž identifikace přispívá k přesnému substrátovému zařazení nádoru. Imunohistochemická technika přináší i další informace stran predikce proliferální potence adenomů, a to specifickou identifikací antigenů typických pro různé fáze růstového cyklu [Němeček 2004].



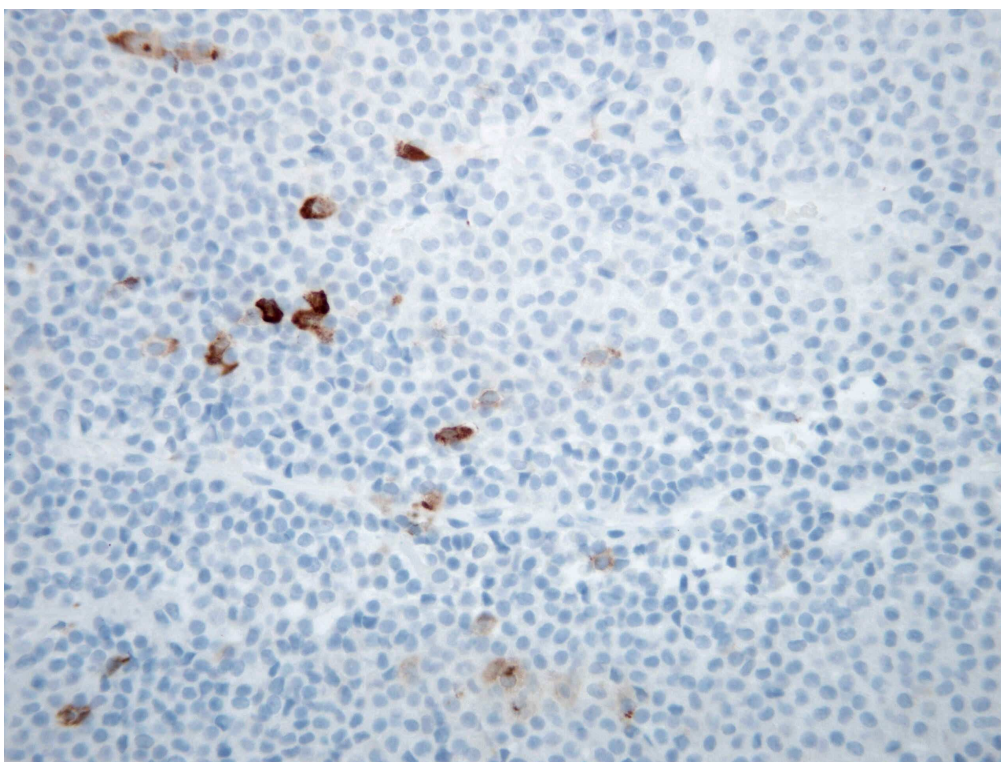
Obr.č.1: Histologický obraz afunkčního adenomu hypofýzy – němý gonadotrofinom s převážně solidním typem růstu. Ojediněle zastížen náznak papilárního uspořádání (tvorba perivaskulárních pseudorozet – viz šipka).



Obr.č.2: Fokální imunohistochemická exprese FSH ve tkáni klinicky němého gonadotrofinomu.



Obr.č.3: Fokální imunohistochemická exprese LH ve tkáni klinicky němého gonadotrofinomu.



Obr.č.4: Fokální imunohistochemická exprese alfa podjednotky ve tkáni klinicky němého gonadotrofinomu.

1.5. Klinicko-patologické rozdělení novotvarů hypofýzy

Hypofyzární adenom je relativně častý benigní tumor tvořený nádorovými sekrečními buňkami adenohypofýzy. Podle WHO klasifikace tumorů je nově řazen mezi nádory endokrinních orgánů [DeLellis 2004]. Morfologická charakteristika je systematizována podle Mezinárodní klasifikace onkologických onemocnění (ICD-O) přidělující typickému adenomu kodové označení 8272/0, atypickému adenomu 8271/1 a pituitárnímu karcinomu 8272/3, přičemž číslice za lomítkem označuje chování nádoru. Typický adenom je považován za benigní proces, karcinom za maligní tumor. Číslice „1“ vyjadřuje hraniční nebo nejisté biologické chování adenomu [DeLellis 2004]. Současná WHO klasifikace nádorů centrálního nervového systému registruje v podkapitole tumorů selární oblasti pouze kraniofaryngom (9350/1), tumor z granulárních buněk (9282/0), pituicytom (9432/1) a onkocytom z vřetenovitých buněk adenohypofýzy (8291/0) [Louis 2007].

Funkční (endokrinně aktivní) adenomy produkují nadměrné množství příslušných hormonů s následnou klinickou endokrinopatií. Současná tvorba více hormonů může být umístěna v jedné buňce (monomorfní adenom) nebo každý buněčný druh produkuje příslušný hormon (plurimorfní adenom). Přibližně asi třetina adenomů je plurihormonální, tedy produkují dva nebo více hormonů. Tento vícehormonální fenomén může mít i klinickou odezvu jako například při kombinaci PRL-STH adenomu s vyjádřenou hyperprolaktinemií a akromegalií. Někdy je identifikace dalších hormonů pouze imunohistochemická bez klinických konsekvencí. **Nefunkční** (hormonálně inaktivní) adenomy bez klinických či laboratorních známek endokrinopatie se projevují až příznaky z útlaku okolních struktur nebo nenápadnou hypofunkční endokrinopatií.

Imunohistochemické a ultrastrukturální rozčlenění adenohypofyzárních tumorů podle 2000 WHO klasifikace [Scheithauer 2000]:

Funkční, hormonálně aktivní adenomy:

- Adenomy s nadprodukcí STH (10-20% všech adenomů) s klinickými projevy akromegalie a méně častěji gigantismu [Laws 1985]
 - 1) Somatotrofní adenom hustě granuloovaný (7%)

- 2) Somatotrofní adenom řídce granulovaný (9%) - typický agresivním růstem.
 - 3) Mammo-somatotrofní adenom (6%). Secernuje dva hormony v somatotrofech a mammotrofech nebo ve společné buňce mammosomatotrofu.
 - 4) Acidofilní adenom z kmenových buněk (1%)
 - 5) Plurihormonální STH adenom – koprodukuje více hormonů, často bez hormonální klinické významnosti.
- Adenomy s nadprodukcí PRL (30%) s klinickými projevy galaktorey a sexuálních poruch [Riedel 1986].
 - 1) Prolaktinom řídce granulovaný (28,6%)
 - 2) Prolaktinom hustě granulovaný (0,3%)
 - 3) Acidofilní adenom z kmenových buněk (3,1%) – laktotrofní adenom s STH reaktivitou - představuje agresivně se chovající a recidivující tumor z nezralých buněk s bihormonální produkcí (PRL + STH).
 - Adenomy s nadprodukcí TSH s klinickými projevy hyperthyreózy. Thyreotrofní adenom je vzácný (0,5% - 1%), často invadující [Scheithauer 1986 -pův.30].
 - Adenomy s nadprodukcí ACTH (10%) s klinickými projevy m.Cushing, častěji u žen v poměru 5:1 [Horvath 1997].
 - 1) Kortikotrofní adenom hustě granulovaný
 - 2) Kortikotrofní adenom řídce granulovaný
 - 3) Adenom z Crookeových buněk - tvořen kortikotrofy s jadernými atypiami a homogenní cytoplazmou. Reprezentují asi 2% kortikotrofních adenomů a mají tendenci k invazivnímu chování.
 - Adenomy s nadprodukcí FSH a LH (10%) – existuje pouze laboratorní průkaz hyperprodukce. Projevuje se spíše symptomatologií z útlaku svým expanzivním růstem. Gonadotrofní adenom je typický svým angiotropním uspořádáním chromofóbních a místy acidofilních buněk.
 - Neklasifikovatelné nádory
Neobvyklé plurihormonální adenomy – různé histologické obrazy neobvyklých kombinací. Častěji je pozorován agresivní růst s výskytem u dětí.

Nefunkční, hormonálně inaktivní adenomy:

- 1) Němé adenomy (subtypy 1-3) – příznačný je negativní nález hormonu v séru při pozitivní histochemické hormonální detekci. Imitují řídce granulované formy jednotlivých klinických funkčních typů [Horvath 1997]. Často mají gonadotropní povahu, exprimují alfa-podjednotu a beta-podjednotku FSH a LH.
- 2) Adenomy z nulových buněk (varianta onkocytární a nononkocytární) – vyčleňují se negativní histochemickou detekcí hormonů [Black 1987]. Při onkocytární přeměně větší části buněk mohou mít povahu onkocytomu.

Hypofyzární karcinom – patří k vzácným maligním tumorům s likvorovými nebo systémovými metastázami, často s projevy hormonální nadprodukce PRL nebo ACTH. Hormonálně afunkční pituitární karcinomy jsou velmi vzácné [Beauchesne 1995, Scheithauer 2000].

Hyperplázie adenohipofýzy – je představována difúzním nebo nodulárním zmnožením normálních adenohipofyzárních buněk při zachované architektuře žlázy [Němeček 2004]. Primární (idiopatická) hyperplázie se vyskytuje asi v 10% případů Cushingovy choroby. Sekundární hyperplázie je způsobena například fyziologicky v laktaci nebo abnormální hypotalamickou stimulací.

1.6. Lokalizace, způsob růstu a invazivita adenomů

Pituitární adenom vychází obvykle ze sekrečních buněk adenohipofýzy. Velmi zřídka je jeho origem zadní lalok hypofýzy z vcestovalých sekrečních buněk. Mikroskopický obraz malých adenomů většinou připomíná v iničiální fázi hyperplázi. Buněčné shluky se dále zvětšují, jejich vazivové stroma se desintegruje. Pomezí novotvaru vytváří pseudokapsulu z nakupených vazivových vláken, které sousedí s buňkami komprimované hypofýzy [Oldfield 2006]. Rozhraní buněk adenomu a přilehlé tvrdé pleny je mikroskopicky velice diskrétní [Selman 1986]. Adenomy rostou z oblasti sedla zpravidla cestou nejmenšího odporu, a to nejčastěji supraselárně, dále infraselárně, retroselárně, preselárně nebo laterálně do oblasti kavernózního sinu. Difragma sedla vytváří tuhý durální strop selární oblasti a funguje tak jako bariéra potenciální tumorózní expanze do supraselárního prostoru. Tato zábrana je fyziologicky oslabena hiátem, kterým prostupuje hypofyzární stopka z nemylinizovaných

nervových vláken společně s cévními strukturami. Velikost apertury diafragmatu je velice variabilní [Kaufman 1972]. Predisponující oslabení diafragmatu v kombinaci s inkompetencí apertury usnadňují supraselární extenzi zvětšujícího se adenomu. U supraselární propagace se nejedná nejspíše o invazivitu, ale pravděpodobně o tlakovou extenzi tumoru, jejímž důsledkem je komprese zrakových nervů, hypothalamu a oblasti III. komory. Parenchymální komprese přilehlé mozkové tkáně je rovněž častějším jevem než její leptomeningeální infiltrace. Trvalé zvětšování adenomu vede k tlakové demineralizaci sedla provázené jeho balónovitým rozšířením. Další extenzí tumoru infraselárně dochází ke ztenčení spodiny sedla, erozím s tvorbou kostních defektů a penetrací tumoru do sfenoidální dutiny. Retroselárním růstem adenomu je působena tlaková destrukce klívu s možnou další propagací tumoru proti mozkovému kmeni. Laterální expanze adenomu do oblasti kavernózního sinu překonává překážku tuhé fibrózní tkáně ukotvené při bazi k laterální, kostěnné hraně tureckého sedla. Buňky invadujícího novotvaru napadají nervové a cévní struktury kavernózního sinu a vyvolávají charakteristické klinické příznaky.

Všeobecně jsou afunkční adenomy hypofýzy považovány za benigní, pomalu rostoucí léze, u nichž není agresivní růst, zvláště u mladších věkových skupin, výjimkou. Růst adenomů je všeobecně dán poměrem proliferační a regresivní složky, kterou představuje nekróza a v minimální míře i apoptóza, tedy přirozená, naprogramovaná buněčná smrt. Růstové křivky těchto procesů vykazují konstantně exponenciální charakter, a to bez ohledu na svůj inicální objem [Tanaka 2003]. Přirozená růstová progresse adenomů může být urychlena apoplektickým krvácením nebo infarktem s náhlou klinickou odezvou. Stejně tak může mít i subklinický průběh s tvorbou nekrotických nebo pseudocystických ložisek. Hemoragická nekróza postihuje většinou afunkční makroadenomy, nevyhýbá se však ani menším adenomům s hormonální nadprodukcí. Paradoxně může apoplexie přispět i k růstovému zbrždění adenomu formou autodestrukce nádorového ložiska. Posthemoragické pseudocysty jsou zaznamenány v histologickém materiálu až u 10% operovaných adenomů.

I přes benigní charakteristiky růstu pituitárních adenomů lze u části z nich pozorovat invazivní způsob chování signalizující jejich agresivitu a z určitého pohledu i maligní potenciál. Tento jev limituje nejenom chirurgickou radikalitu, ale může vyústit i ve významnou neurologickou nebo endokrinopatologickou symptomatologii. Invazivita se projevuje infiltrací tumorózních buněk do histologické struktury přilehlé tvrdé pleny a destrukcí okolní kostní tkáně [Selman 1986]. V mnohých případech je invazivita obtížně odlišitelná od tlakové extenze adenomu do sousedního kompartmentu. Její průkaz závisí na

grafické, histologické nebo peroperační identifikaci, přičemž větší váha je kladena na pohled peroperační a grafický [Scheithauer 1986]. Přesah nádorových hmot přes kontury sedla s velikostí procesu logicky vzrůstá, přesto tato schopnost není výsadou pouze velkých adenomů. U mikroadenomů je podle peroperačního a grafického hlediska pozorována až v 10% případů. Ve větší míře ji můžeme vysledovat u makroadenomů (35%) a prakticky u všech gigantických adenomů (85-95%), kde se na extenzi podílí i dlouhodobé kompresivní působení na okolní tkáň. Při čistě histologickém hodnocení byla invazivita prokázána až v 66% u mikroadenomů, v 87% u makroadenomů a až v 94% u tumorů se supraselární propagací [Selman 1986]. V kontrastu s histologickým průkazem se hodnocení invazivity neurochirurgem pohybuje v nižších procentech. Dle Selmana dosahuje celkově asi jen 35% a kolísá podle typu adenomu. Přibližně 50% prolaktinomů, STH adenomů a plurihormonálních adenomů jeví peroperační známky kostní nebo durální invaze. U gonadotrofinomů byla neurochirurgem zachycena jen ve 20%, u adenomů z nulových buněk asi ve 40% [Scheithauer 2000]. Za invazivnější typy jsou všeobecně považovány prolaktinomy u mužů, dále tumory s Nelsonovým syndromem, thyreotropní a němé kortikotropní adenomy.

Moderní poznatky na poli molekulární patologie vnesly nové souvislosti do mechanismu růstu invazivních pituitárních procesů, což dává naději do budoucna jejich růst kauzálně ovlivnit alternativními způsoby léčby. Agresivita invazivních tumorů je podle mnoha autorů dána protražovanou sekvencí genetických alterací. Amplifikace H-ras a c-myc protoonkogenů a mutace tumor supresorových genů p53, nm23 a Rb byly s převahou identifikovány u agresivnějších adenomů. V konkrétním případě pituitárních karcinomů je považována amplifikace těchto onkogenů a inaktivace tumor supresorových genů za jeden z prokazatelných mechanismů rychlejší růstové progresse [Suhardja 2001].

1.7. Klinická symptomatologie afunkčních hypofyzárních adenomů

V porovnání s ostatními pituitárními lézemi dosahují afunkční adenomy podstatně větších objemů. Projevují se hypofunkční endokrinopatií, která je způsobena tlakem rostoucího adenomu na sekreční buňky adenohipofýzy. Příznaky nejsou tak nápadné jako u hypersekrečních syndromů funkčních adenomů, proto unikají pozornosti a jsou diagnostikovány později. Klinická symptomatologie je vyvolána zpravidla až útlakem okolních struktur.

Patognostickým příznakem bývá průběh bolestí hlavy. **Cefalea** mívá tupý charakter s maximem za očima, v počátku je obvykle intenzivnější, což odpovídá penetraci adenomu

přes aperturu v difragmatu. Tento příznak však není konstantní a v některých případech zcela chybí. Po průniku adenomu do supraselárního prostoru se její intenzita naopak zmírňuje. Dalším růstem adenomu dochází ke kompresi chiasmatu s rozvojem **zrakových poruch**. Normální vzdálenost mezi hypofýzou a chiasmatem interindividuálně kolísá mezi 10-15 mm. Podle některých literárních zdrojů musí adenom supraselárně narůst do průměru asi 2cm, aby způsobil zrakové obtíže [Tanaka 2003]. Kromě prosté komprese zrakových nervů se při asymetrickém růstu adenomu může uplatňovat i trakce. Na postižení zrakového nervu mají dále vliv lokální ischemické změny. Adenomy atakující chiasma působí v úvodu nejčastěji horní temporální kvadrantanopsii, která časem progreduje v bitemporální hemianopsii. To platí pro klasické případy, kdy adenom roste symetricky nahoru podél stopky a komprimuje přední část chiasmatu ve střední čáře. V praxi se však setkáváme s nejrůznějšími, asymetrickými výpadky zorného pole, které odráží nestejnou kompresi zrakové dráhy. Popisována je i variabilita v distribuci zrakových vláken v chiasmatu. Mezi faktory, které ovlivňují rozvoj chiasmatického syndromu, řadíme především velikost a konzistenci procesu. Tužší, fibrotické adenomy způsobují zrakové poruchy častěji. Důležitým hlediskem je i časový faktor vzniku komprese. Akutní prokrvácení adenomů dramaticky akceleruje jeho růst a podílí se rozhodující měrou na zrakovém postižení. Optická dráha naopak poměrně dlouho toleruje pozvolné tlakové působení. Zatímco endokrinní aktivita nemá podle mnohých literárních citací vliv, za důležitou je naopak považována individuální tolerance optických nervů ke kompresi [Jakobson 2002]. Ta je do značné míry závislá na celkovém stavu organismu (diabetes mellitus) nebo na preexistující oční patologii (glaukom). Vyšetření očního pozadí přináší důležitou informaci o změnách papily zrakového nervu. Známky atrofie optického terče jsou všeobecně považovány za nepříznivý prognostický faktor s ohledem na možnou reparaci zrakových poruch po dekompresi.

Při penetraci do kavernózního sinu se adenomy obvykle projeví **okohybnou poruchou**. Nejčastěji je při posterolaterální propagaci rostoucího adenomu postižen nervus okulomotorius (n.III) a abducens (n.VI). Vzácná a klinicky nenápadná je izolovaná porucha trochleárního nervu (n.IV). Trigemínální neuralgie z iritace maxilární větve n.V patří rovněž mezi sporadicky se vyskytující příznaky. Retroorbitální bolest s exoftalmem a chemózou spojivky signalizují venózní kongesci z komprese intrakavernózních žilních pletení.

Makroadenomy na sebe někdy upozorní galaktoreou nebo poruchami menstruačního cyklu z hyperprolaktinémie, která je způsobena **kompresí stopky hypofýzy** a bloádou dodávky dopaminu (tzv. fenomén stopky hypofýzy). Osteodestruktivní adenomy se mohou

vzácně projevit také **nosní likvoreou**, která může být jejich prvotním projevem. Častěji bývá likvorea pozorována například u prolaktinomů zaléčených dopaminergními agonisty, kdy se medikamentózním zmenšením procesu naruší arachnoidea v okolí destruované spodiny tureckého sedla.

Při významné supraselární propagaci adenomu může útlak likvorových cest způsobit obstrukční **hydrocefalus** s projevy intrakraniální hypertenze. Invaze do struktur hypothalamu s rozvojem hypothalamického syndromu je dnes spíše raritou. Dochází k metabolické dysbalanci s možnými vážnými důsledky pro organismus. Méně významné projevy hypothalamické afekce spadají do sféry psychických poruch v podobě zvýšené nervové lability, narušení spánkového rytmu nebo bulimie.

Hormonální vyšetření ve více než polovině případů odhalí parciální **hypopituitarismus**, který je všeobecně považován za pozdní příznak. Experimentální studie ukázaly, že musí být destruováno 80% hypofýzy, aby se objevila hormonální hypofunkce. Při pozvolném rozvoji postižení hypofýzy dochází k projevům nedostatečné sekrece postupně. Většinou se tak děje v daném pořadí podle individuální tolerance sekrečních buněk k mechanické kompresi. Nejprve slábne tvorba gonadotrofinů (LH, FSH), dále STH, TSH a obvykle nakonec ochabuje produkce ACTH. Panhypopituitarismus se objeví, je-li porušeno více než 85-90 % adenohipofýzy. Při rychlém rozvoji dysfunkce hypofýzy, například při **apoplexii**, je deficit většinou hlubší. Ta je způsobena hemoragií, ischemií nebo nekrózou hypofyzární tkáně a je doprovázena bohatou škálou lokálních i celkových neurologických příznaků. Podle některých autorů ataka apoplexie doprovází růst makroadenomů ve 3-17% případů [Wakai 1981]. Dominuje při ní bolest hlavy, přítomny jsou zrakové poruchy včetně postižení okoohybné inervace. Oftalmoplegie bývá přítom pozorována častěji (78%) než porucha vízu (52-64%) [Liu 2003]. Výjimkou nejsou ani doprovodné psychické změny způsobené zvýšením intrakraniálního tlaku, ať už mechanismem náhlého objemového nárůstu kapsuly s tlakem na hypothalamus nebo provalením krve přes kapsulu s následným subarachnoideálním krvácením. Klinické příznaky v této situaci potom imitují rupturu aneuryzmatu. V těžších případech dochází k různému stupni poruch vědomí.

Hypofunkce adenohipofýzy může být v některých situacích i epizodická, klinicky nenápadná, spojená například s přechodným zánětem. Hypopituitarismus se někdy může manifestovat při reakci organismu na stres nebo je odpovědí na výraznější výkyvy tělesné hmotnosti.

Klinické příznaky jednotlivých hypofyzárních deficitů:

Deficit STH se projevuje v dětském věku poruchou růstu, tzv. hypofyzárním nanismem. Tělesný růst je omezen, růstové tempo je zpomaleno. Neléčení jedinci dorůstají v průměru 130-140 cm tělesné výšky. Mají často další známky prepubertálního hypopituitarismu. Typické je infantilní vzezření a dětský genitál. Inteligenční potenciál jedince zůstává v normě. V dospělosti se deficit STH (tzv. GHDA syndrom – growth hormone deficiency in adults) projeví nadváhou s redistribucí tuku do břišních partií, snížením aktivní svalové hmoty, změnou spektra lipidů, celkovou nevykonností organismu, sníženou vitalitou, zvýšenou únavou a psychickými změnami s častějšími stavy úzkosti. Útlum tvorby LH a FSH vede k hypogonadismu. U žen se prezentuje poruchami menstruačního cyklu, u mužů většinou útlumem v sexuální sféře. Deficit TSH provokuje sekundární hypotyreózu, která se projevuje intolerancí chladu, suchou kůží a mentálními změnami. Nižší hladina PRL se manifestuje pouze u kojících matek útlumem až zástavou laktace. Nižší hypofyzární produkce ACTH působí hypokortizolismus, který se od periferního liší absencí hyperpigmentace a normální sekrecí mineralokortikoidů. Projevuje se glukokortikoidním a androgenním deficitem. Nemocným přináší zvýšenou svalovou slabost a celkovou únavu. Komprese zadního laloku hypofýzy může způsobit poruchu tvorby adiuretinu s klinickými projevy diabetu insipidu s nadměrnou produkcí hypoosmolární moči. Dominujícím klinickým příznakem je kromě polyurie i polydipsie s laboratorní odezvou v podobě hypernatrémie a hypokalémie.

2. Současný pohled na problematiku afunkčních adenomů hypofýzy

2.1. Zobrazovací metody selárních patologií

Krajina tureckého sedla sdružuje na poměrně malém prostoru mnoho tkání různého embryonálního základu. Tato vývojová heterogenita tkání dává vznik histologicky rozmanitým patologickým procesům. S rozvojem moderních počítačových technologií aplikovaných ve zdravotnictví došlo k významnému pokroku v zobrazení intrakraniálních lézí. Suverénní diagnostickou metodou se stala v zobrazení selární oblasti MR, která nahradila CT vyšetření.

Prosté RTG snímky lbi mají v diagnostice hypofyzárních expanzí stále svůj význam. V terénní praxi občas náhodně napomohou identifikovat tlakové změny tureckého sedla. Typické je jeho balonovité rozšíření, často s dvojitou konturou spodiny sedla svědčící pro kostní destrukci. Někdy se tlakové změny projeví jen lehkou defigurací sedla, a to například elongací předních klínovitých výběžků, ztenčením a posunutím sedla dozadu nebo jen lehkou depresí spodiny. Za abnormální předozadní rozměr sedla je považována distance větší než 17mm, hloubka měřená od spojnice tuberkula a dorsa by neměla přesáhnout 13mm. Šířka normálního sedla varíruje v rozmezí mezi 10 až 15mm. Plocha větší než 130mm² a objem sedla přesahující 1092 mm³ signalizuje patologický proces hypofyzární oblasti [DiChiro 1962].

Při cíleném vyšetření tureckého sedla zahrnuje standardní CT protokol tenké (1-2mm) vrstvy začínající u infraorbitomeatální linie [Šerc 2000]. Skeny provedené v axiální rovině je nutno doplnit multiplanární rekonstrukcí, a to jak v rovině sagitální, tak i v rovině koronární. Počítačová tomografie sice lépe zobrazuje kostní změny sedla, ale přináší i velké množství artefaktů z okolních kostních struktur a tím se stává méně přehlednou pro jemné změny hypofýzy. Velice cenné však může být detailní zobrazení sept sfenoidální dutiny, které neurochirurg často ocení při orientaci ve sfenoidální dutině. Zobrazení kalcifikací může přispět v diferenciální diagnostice k odlišení adenomu od kraniofaryngeomu.

V současné době je u podezření na pituitární patologii indikována MR. Tato zobrazovací metoda je upřednostňována pro schopnosti kvalitního multiplanárního zobrazení jemných struktur sedla. Doplnující obrazové analýzy přispívají v diferenciální diagnostice selárních procesů. Vyšetřovací protokol hypofýzy obsahuje sagitální T1 a koronární T1 a T2

tenké vrstvy (2-3mm u mikroadenomů). Nativní MR vyšetření adenomů hypofýzy ukáže nejčastěji ohraničený útvar v sedle, který se na T1 vážených obrazech projevuje hypointenzně proti tkáni hypofýzy. Na T2 vážených obrazech je většinou hyperintenzní, není-li ovšem signál změněn například krvácením nebo přítomností cysty.

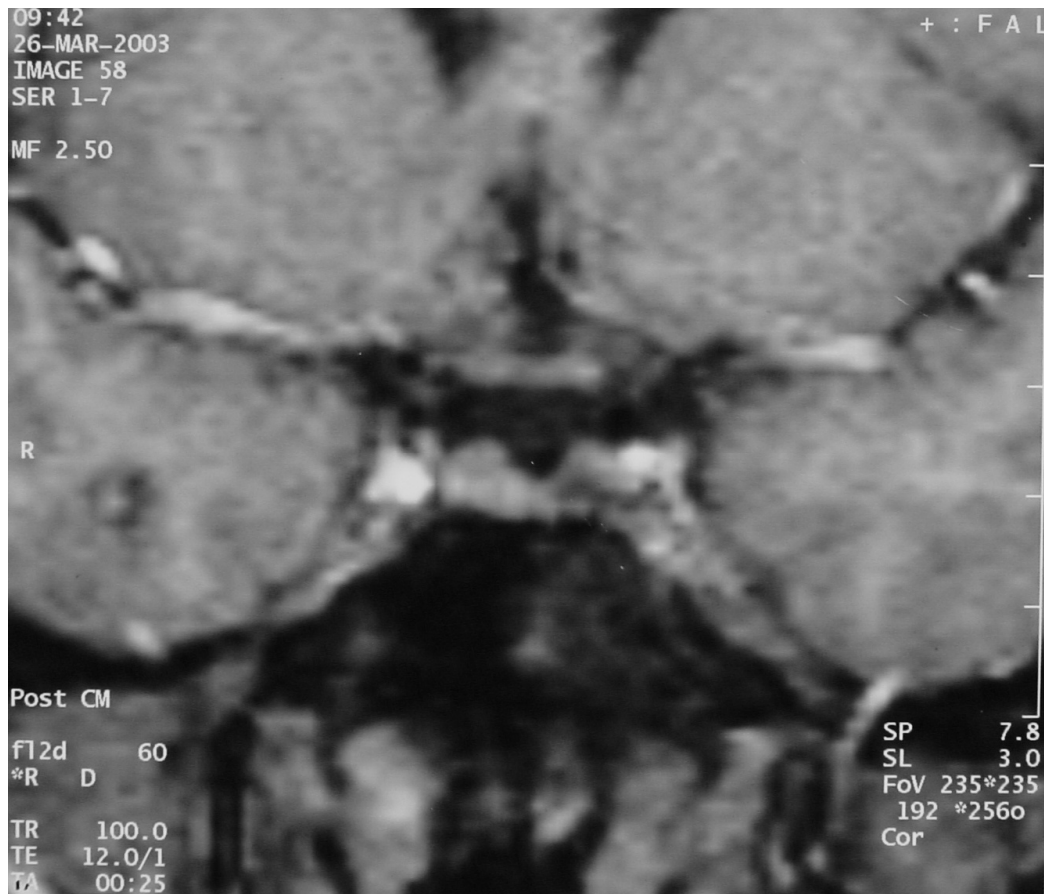


Obr.č.5: MR sagitální, T1-vážený obraz supraselárně extendujícího makroadenomu sutkovitého tvaru, destrujícího spodinu sedla.

Tužší, fibrotickou konzistenci lze s určitou pravděpodobností předpovědět z T2-vážených skenů tehdy, je-li adenom izointenzně homogenní [Snow 1990]. Tento příznak se však vyskytuje jen asi u 70% takto zobrazených adenomů a je považován spíše za nespecifický.

Na přítomnost mikroadenomu často upozorní nepřímé tlakové známky, například deviace stopky hypofýzy, asymetrické vyklenutí diafragmatu nebo přítomnost drobných nehomogenit signálu v hypofýze. Zejména u mikroadenomů má diagnostickou cenu postkontrastní dynamický sken. Při i.v. podání gadolinia je prováděna rychlá dynamická koronární T1 sekvence pro mikroadenomy, pro makroadenomy jsou dostačující T1 spin-echo

vrstvy. Po podání kontrastní látky se v časné arteriální fázi nejprve opacifikuje stopka s neurohypofýzou, poté adenohypofýza. Mikroadenom zpravidla vytváří v této časné fázi ohraničený, hypointenzní uzlík v opacifikované žláze. S určitou latencí se kontrastem přibarvuje i mikroadenom [Miky 1991].



Obr.č.6.: MR T1-vážený postkontrastní sken v koronární projekci prokazuje drobný mikroadenom v levé polovině sedla. Spíše než expanzivními projevy na sebe upozorňuje defektem v sycení hypofyzární tkáně kontrastní látkou (gadolinium).

U makroadenomů, které se všeobecně opacifikují ve větším rozsahu a často nepravidelně, přináší kontrastní zvýraznění komprimované hypofýzy rovněž cennou informaci. Ta zpravidla vytváří tenký lem časně se opacifikující tkáně při dorsu, popřípadě po stranách sedla. Její zobrazení a odlišení od makroadenomu však bývá spíše výjimkou než pravidlem. Kontrastní zobrazení kavernózního sinu s vnitřní krkavicí v koronární projekci umožní odhalit penetraci adenomu do paraselárního prostoru, což je v předoperační rozvaze důležitá informace pro chirurgickou rozvahu. Graficky se paraselární invaze projevuje defekty nebo spíše asymetrií v kontrastním zobrazení kavernózního sinu. Senzitivita MR vyšetření pro

lehkou durální infiltraci adenomem dosahuje podle některých literárních údajů pouhých 50% [Scotti 1988]. Za průkaznou paraselární infiltraci je označováno zaujetí karotidy adenomem z více než poloviny jejího obvodu.



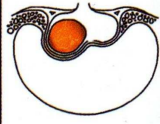



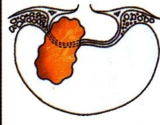

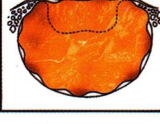

Při podezření na cévní patologii v sedle, například na mediálně orientované kavernózní aneurysma vnitřní karotidy, doplňujeme vyšetření magnetickou angiografií - MRA. Koincidence aneuryzmatu v této lokalizaci u hypofyzárních adenomů je podle literatury častější [Pia 1972]. Jeho nerozpoznání v předoperační fázi může přinést fatální důsledky. Stejně riziko představuje i přítomnost perzistující primitivní trigeminální arterie. Vyšetření MRA může být přínosné i v případě mediálně uložených karotid. Normální distance mezi mediálním okrajem vnitřní karotidy a laterální hranicí hypofýzy je 1-3 mm [Rhoton 1979]. Dolichoektatická karotida, která se vyskytuje koincidentálně častěji u akromegalie, může svou mediální pozicí nebezpečně zužovat transnazální operační cestu [Wilson 1997].


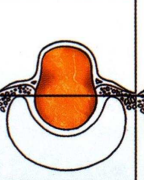
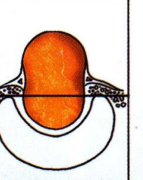
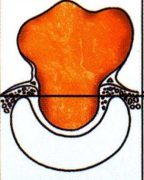
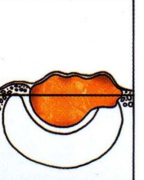
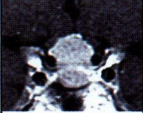




Zvláštní kapitolou zasluhující samostatnou zmínku jsou pooperační nálezy na MR. Časné pooperační nálezy v sedle mohou být kombinací rezidua tumoru, edému, krvácení nebo ponechaného hemostatického materiálu. Plastika sedla tvořená fascií a spongostanem, tvarovaná do formy jakési „panenky“, přináší rovněž diagnostické problémy. Z tohoto pohledu se jeví použití tuku výhodnější, protože jeho signálová charakteristika je nezaměnitelná. Signál gelasponu bývá v časně fázi hypointenzní s tenkou periferní opacifikací pro přítomnost barvícího se lemu. Definitivní stabilizace grafického obrazu se dostavuje vlivem regredujících pooperačních změn až s odstupem 3 až 4 měsíců od operace [Rajaraman 1999].

2.2. Grafické klasifikace adenomů hypofýzy

Hypofyzární adenomy dělíme z morfologického hlediska podle velikosti na pikoadenomy (pod 5mm), mikroadenomy (pod 10mm) a makroadenomy (nad 10mm). V literatuře se objevuje i termín gigantické adenomy dosahující alespoň v jednom ze svých rozměrů 25mm.

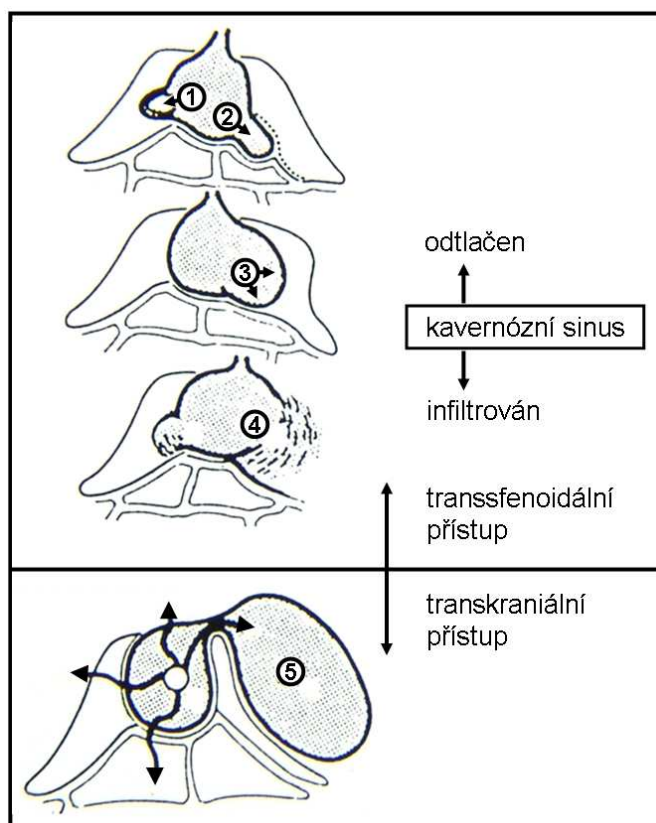
Již za éry CT byla Julesem Hardym v roce 1969 vytvořena klasifikace nádorů hypofýzy. Přes 30letou tradici zůstává tato klasifikace doposud nejužívanější, přestože se objevuje v mnoha různých obměnách. Neurochirurgy je ceněna zejména pro svou výstižnost a zároveň jednoduchost. Kromě velikosti adenomů si všímá jejich invazivity a vztahu k supraselárním strukturám, naopak ve své původní podobě pomíjí izolovanou paraselární extenzi adenomů. Ta byla zapracována do původního schématu až o několik let později.

SPODINA TURECKÉHO SEDLA				
neinvazivní (ohraničené adenomy)	Gr 0			spodina intaktní, normální kontura
	Gr I			spodina intaktní, místní vyklenutí spodiny
	Gr II			spodina intaktní, sedlo rozšířené
invazivní	Gr III			spodina částečně destruována
	Gr IV			spodina totálně destruována

EXTRASELÁRNÍ EXTENZE				
symetrické			asymetrické	
A	B	C	D	E
				
				
supraselární cisterna	spodina III. komory	přední část III. komory	supraselární extenze	laterální extenze

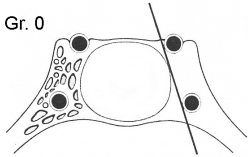
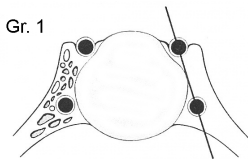
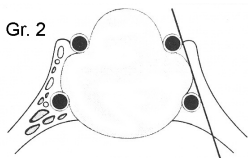
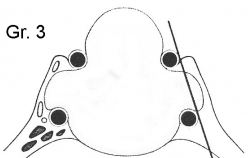
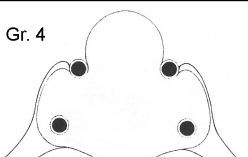
Schema č.1: Radiologická klasifikace pituitárních tumorů [Hardy1991]. Klasifikace rozčleňuje neinvazivní (gr.I a II) a invazivní adenomy (gr.III a IV) na základě MR známek kostní integrity spodiny sedla a kontinuity kavernózního sinu. Propagace rostoucích adenomů do supraselárního prostoru je označena při symetrické extenzi „A“, „B“ a „C“, při asymetrickém supraselárním růstu „D“ a čistě paraselárním „E“. Písmeno je přidělováno jako přípona ke stupni I-IV.

Nástup MR umožnil díky schopnosti detailnějšího grafického zobrazení její modifikaci Nistorem, Hukem a Fahlbuschem v roce 1990, která zároveň obsahuje doporučení pro volbu operačního přístupu.



Schema č.2: Nistorova klasifikace [Nistor 1991].

Invazivní adenomy s propagací do kavernózního sinu rozpracoval v roce 1993 Knosp. Současně navrhl jejich rozčlenění do 5 stupňů (st.0-4) podle stupně penetrace, která je posuzována na základě defigurace kavernózního sinu na postkontrastních, koronárních projekcích MR. Tato klasifikace sice nenašla širšího klinického uplatnění, přesto ve své podstatě nabízí velmi cennou předoperační informaci o míře infiltrace paraselární oblasti.

 <p>Gr. 0</p>	<p>Grade 0 Adenom bez paraselární propagace – linie mezi mediálními plochami intra- a suprakavernózní částí karotidy není tumorem narušena</p>
 <p>Gr. 1</p>	<p>Grade 1 Extenze tumoru nepřesahuje interkarotickou linii</p>
 <p>Gr. 2</p>	<p>Grade 2 Tumor přesahuje interkarotickou linii, ale nepřekračuje laterální tangentu intra- a suprakavernózní částí karotidy</p>
 <p>Gr. 3</p>	<p>Grade 3 Tumor se propaguje přes laterální tangentu intra- a suprakavernózní částí karotidy</p>
 <p>Gr. 4</p>	<p>Grade 4 Tumor totálně zaujímá obvod vnitřní karotidy v intrakavernózním úseku</p>

Schema č.3: Knospova klasifikace paraselárně extendujících adenomů hypofýzy [Knosp 1993].

2.3. Léčba afunkčních adenomů hypofýzy

Léčbou volby u hormonálně neaktivních pituitárních adenomů představuje operace s cílem proces v sedle odstranit nebo alespoň bezpečně zmenšit a snížit tak útlak okolních struktur, především zrakových nervů. Za alternativní léčebnou techniku s uspokojivými klinickými výsledky je považována radioterapie. Její úloha často spočívá v doléčení chirurgicky obtížně přístupných pooperačních reziduí. U interně limitovaných pacientů s vysokým rizikem celkové anestezie bývá aplikována i jako léčba primární. Medikamentózní terapie je u hormonálně neaktivních adenomů jen málo efektivní. Při užití dopaminergních agonistů (bromokryptin) docházelo k minimální objemové redukci jen u asi 20% nemocných, což bylo zapříčiněno nedostatečným množstvím dopaminergních receptorů na buněčných membránách. Somatostatinová analogá (oktreotid) působila zmenšení afunkčních adenomů jen asi u 10% pacientů i přes nadějně výsledky experimentálních studií na kulturách in vitro, kde somatostatin inhiboval intaktní glykoprotein a tlumil produkci prekurzorových podjednotek [Comtois 1993]. V klinickém použití se tak somatostatin i vlivem

farmakologické nestability zatím neuplatnil. Léčebná snaha cílená na GnRH (gonadotropin-uvolňující hormon) receptory u gonadotrofinomů rovněž nevedla k pozitivnímu grafickému efektu. U menších adenomů nepůsobících klinickou symptomatologií lze postupovat i pouhým sledováním procesu. Kontrolní MR prováděné v plánovaných časových intervalech umožní odhadnout růstovou potenci adenomu a optimálně tak stanovit další léčebný postup.

2.3.1. Operační přístupy

Transsfenoidální přístup

Transsfenoidální operační přístup k adenomům hypofýzy je od šedesátých let 20.století nejužívanější technikou. V současné době se až 90% adenomů operuje právě touto cestou. Cíl výkonu spočívá v radikálním, selektivním odstranění tkáně adenomu při současně splněné podmínce nízké morbidity a mortality. Tento úkol je limitován nejenom uložením a rozsahem procesu, ale hlavně konzistencí nádoru. Fibrózní adenomy lze jen velmi obtížně tímto operačním přístupem radikálně odstranit. Koridor operačního přístupu je totiž velmi úzký a umožňuje jen minimální manipulaci s tuhým adenomem. U invazivních makroadenomů šířících se do okolí, zvláště paraselárně do oblasti kavernózních sinů, je dosažení radikální resekcce adenomu touto přístupovou cestou rovněž nesnadné.

Transsfenoidální přístup je indikován u intraselárních tumorů, symetrických supraselárních extenzí nebo u makroadenomů, kde se snažíme odstranit dosažitelnou porci tumoru v trajektorii přístupu. Tzv. metoda „otevřeného sedla“ umožní při reoperaci ve druhé době zastihnout reziduum adenomu vkleslé do sedla. Kolaps rezidua tumoru lze očekávat až po několika týdnech, zpravidla však až po několika měsících. Platí to zejména pro adenomy řídkší konzistence. Tužší supraselární porce adenomu ohraničené pevnou kapsulou, navíc fixované fibroplastickou reakcí k okolí, zpravidla do sedla neklesají a vyžadují spíše transkraniální reoperaci.

Za kontraindikaci transnazálního výkonu jsou v literatuře všeobecně považovány supraselárně extendující adenomy s tukovitým tvarem, u kterých je supraselární porce uskřítna úzkým hiátem diafragmatu nebo je primárně extraselárně lokalizovaná. Dále je tento přístup nevhodný u procesů, u nichž předpokládáme tužší konzistenci, pevnou fixaci k okolním strukturám nebo abnormální cévní zásobení (např.meningeom tuberkula sedla, germinom, solidní porce kraniofaryngeomu apod.). V dnešní době s rozvojem zvláště endoskopických technik lze postihnout i tyto procesy z modifikovaného transsfenoidálního přístupu [deDivitis 2007]. Kontraindikací bezpečného transnazálního přístupu může být sblížená poloha karotid

zužující operační koridor. Dříve v literatuře uváděná nevzdušnost sfenoidální dutiny (tzv. konchální typ) nebo jeho asymetrická septace již dnes není pro neurochirurgy tak zásadní překážkou. Orientaci v nepřehledné klínové dutině usnadní počítačová navigace.

Nedostatečná pneumatizace dutiny si vyžaduje použití vysokobrátkové frézy k odbroušení části klívu [Shou 2005]. Závažnější překážku transfenoidálního přístupu s potencionálními riziky pro pacienta představuje zánět v oblasti sfenoidální dutiny, který může být při operaci zanesen intrakraniálně.

Předoperační příprava zahrnuje odběr kultivace z obou nosních průduchů, dále preventivní podávání antibiotického roztoku v kapkách po dobu 2 dnů před operačním výkonem. Na operačním sále aplikujeme kromě ředěného desinfekčního roztoku i lokální vasokonstriktory ke snížení hyperémie nosní sliznice. Z anesteziologického pohledu je nezbytná preventivní substituce kortikoidů k zajištění operačního výkonu.

Transsfenoidální přístup lze technicky provést ze sublabiálního nebo endonazálního řezu (rinoseptální přístup) zvolené nosní dírky. Sublabiální řez je dnes užíván jen výjimečně, především z důvodu vyššího rizika necitlivosti horních řezáků. Uplatnění nachází jen u nemocných s malými nosními aperturami, například u pediatrické populace. Rinoseptální přístup je považován za šetrnější a v současné době je i častěji využíván. Po mukozní incizi na přepážce následuje paraseptální, submukózní separace spekulem podél septa, které vylamujeme kontralaterálně. Nasazený retraktor, jehož obě branže nasednou přes rostrum sfenoidální kosti, potom odtlačí nosní sliznici a ohraničí operační koridor. Jako hlavní orientační bod označující střední čáru slouží právě etmoidální krysta, jejíž ozřejmení je pro operátora zásadní. Variantou rinospetálního přístupu je i přímá sfenidotomie, která atakuje nosní septum až těsně před rostrem sfenoidální dutiny. Jako první ji popsal Griffith v roce 1987. Její výhody spočívají především v šetrnosti vůči přepážce, jejíž defekty mohou být zdrojem chronických obtíží pacientů. Jednoduchost tohoto přístupu chirurg ocení zvláště u reoperací, kde fibrotické změny na septu znesnadňují submukózní separaci. Sfenidotomie, zpravidla již pod mikroskopickým zvětšením, si často vyžaduje použití vysoobrátkové frézy zvláště v situacích mohutnějšího vomeru. Orientaci ve sfenoidální dutině často napomáhá její septace, zvláště je-li pravidelná s vertikálně orientovanými přepážkami. Naopak asymetrická poloha sept v kombinaci s částečnou nevzdušností klínové dutiny nebo mělkým reliéfem sedla může chirurgovi situaci ztížit. V komplikovaných případech, zláště při reoperacích s absencí původních orientačních bodů, je navigace užitečným pomocníkem. Po průniku do klínové dutiny odstraňujeme sliznici, a to ve většině případů v celém jejím rozsahu. Ponechané zbytky

mukózy bývají zdrojem obtěžujícího krvácení do operačního pole, navíc i potenciálním zdrojem mikrobiální infekce. Spodina sedla bývá u makroadenomů často ztenčelá, místy i defektní, ať už z tlakové uzurace nebo penetrací tumoru. Pevnější spodinu tureckého sedla perforujeme frézou v centru, okrajové části potom doštípáváme Kerrisonovými klíšťkami. Durotomii provádíme na našem pracovišti pomocí CO₂ laseru, přičemž odebíráme vzorek tvrdé pleny k mikroskopickému vyšetření k průkazu případné mikroskopické invaze adenomem. Laser, jehož paprsek s různou mírou fokusace působí na tkáň i hemostaticky, lze s výhodou použít i na tužší partie adenomů a zmenšovat je evaporizací. Měkké, místy až tekuté části adenomu lze odstraňovat pomocí kyret s prstencovitým profilem a vysavačem. Důležitý moment při výkonu představuje rozpoznání hranice kapsuly tumoru a okolní hypofyzární tkáně, která je většinou tužší a barevně okrovější v kontrastu proti šedavým hmotám adenomu. Technika intrakapsulární kyretáže supraselárních porcí adenomů má rovněž svoje logické zákonitosti. Postupuje zpravidla od okrajů k centru tak, aby kolabující arachnoidea vklesávající do sedla neznehlednila další kyretáž (cirkulární technika resekce). V této fázi je vhodné použít endoskop s úhlovou optikou k přehlédnutí skrytých reziduí adenomu, protože sondážní dojem může být nepřesný. Určitou zajímavostí je použití Valsalvova manévru nebo přechodné nastavení PEEPu (positive end-expiratory pressure) na dýchacím přístroji (hodnota +10 torrů v trvání 10min) při konci evakuace adenomu ve snaze zvýšit intrakraniální tlak a nahrnout tak reziduální supraselární porci do operačního pole. Další zisk tumoru mohou přinést i razantní výplachy sedla fyziologickým roztokem. Hemostáza může být v pituitární chirurgii problematická zvláště v místech skrytých pohledu mikroskopem, ale zpravidla vystačí s klasickým kontaktním hemostatikem. Technika uzávěry spodiny sedla po výkonu se odlišuje snad jenom v detailech použitého materiálu. V principu má za cíl zrekonstruovat spodinu sedla a oddělit tak hypofýzu od vedlejší dutiny nosní. Naše pracoviště využívá k plastice fascii z tkáňové banky a spongostan, které formujeme do tvaru „panenky“. Ta je vkládána „hlavičkou“ do sedla a „sukénkou“ je rozprostřena mezi duru a kostěnou spodinu. Sfenoidální dutinu se snažíme ponechat vzdušnou. Jiná pracoviště preferují použití vlastního tuku, svalu a fascie ze stehna, někdy s fixací tkáňovým lepidlem. V principu platí, že o důkladný uzávěr spodiny sedla bychom se měli snažit zvláště v situacích peroperační likvorey. Transnazální výkon zakončujeme repozicí přepážky, suturou mukozy na septu (rinoseptální přístup) a tamponádou nosních průduchů vazelinovými smotky, které ponecháváme 48 hodin po operačním výkonu.

Další modifikace transsfenoidálních přístupů vznikly na základě požadavku rozšířit úzký operační koridor ve snaze cíleně zasáhnout para- nebo preselární porci adenomu.

Vznikly tak i techniky používající například odfrézování tuberkula sedla – tzv. transsfenoidální-transtuberkulární přístup pro supradiafragmatické adenomy nebo rozšířený transsfenoidální přístup se submukózní zadní ethmoidektomií k postižení paraselárních partií. Zvláštní kapitolou jsou operace v kavernózním sinu, jejichž technická náročnost a nadprůměrná rizika vyseletovala pouze úzký okruh neurochirurgů věnující se této problematice. V klasickém pojetí pituitární chirurgie je oblast kavernózních sinů spíše šetřena. Stala se doménou neinvazivní radiochirurgie.

Moderní technickou variantou transsfenoidální resekce tumoru se v dnešní době stává endoskopická technika. Na většině pracovišť se v současnosti používá endoskop jako asistenční nástroj v závěru mikroskopické resekce procesu, kterým lze s pomocí zaúhlené optiky nalézt a následně odstranit případné reziduum adenomu ve skrytých partiích selární krajiny. U čistě endoskopické techniky je operární koridor veden jedním (monostránní přístup) [deDivitis 2002], případně oběma (binostránní přístup) nosnímu průduchy [Dusick 2006]. V prvním případě je po lateralizaci střední nosní skořepky provedena jednostranná sfenoidotomie s odstraněním sept uvnitř sfenoidální dutiny, což splňuje podmínky minimálně invazivního přístupu. Širší operační prostor nabízí binostránní technika „čtyř rukou“ [Cavallo 2005], kdy oboustranná sfenoidotomie zajistí komfortnější manipulaci s nástroji pro neurochirurga i jeho asistenta. Vyšší radikalita endonasálních endoskopických výkonů s sebou přináší i vyšší riziko per- i pooperační likvorey [Masopust 2008]. U rozšířených endonasálních výkonů se uplatňují kromě klasických technik i složitější způsoby rekonstrukce durálního defektu baze lebni, například transpozice temporoparietálního fasciálního laloku [Snyderman 2007, Fortes 2007].

Pooperační mortalita se podle literárních zdrojů u klasických transnazálních výkonů pohybuje mezi 0-1,5%, morbidita kolísá mezi 1-8%. Mezi potenciální komplikace řadíme likvoreu (1-4%), meningitidu (0,8-2%), sfenoidální sinusitidu (5%), hypopituitarismus (4%-26%), přechodný diabetes insipidus v 10-60% a permanentní v 1-1,5% případů [Nistor 1991, Náhlovský 2004, Ciric 1997]. Zcela vyjímečně registrujeme poranění optiků (1,8%) nebo nervů uložených v kavernózním sinu, SIADH syndrom z iritace neurohypofýzy, krvácení do pooperační kavity nebo hypotalamickou lézi. Specifickou komplikací může být poranění vnitřní karotidy (do 1,1%) s vysokou mortalitou (14%) i morbiditou (24%) [Raymond 1997] nebo zadní epistaxe z poranění sfenopalatinální artérie, zpravidla s méně závažnými následky.

Transkraniální intradurální přístup

Indikací tohoto invazivního přístupu v dnešní době ubývá, tvoří asi jen 10-15% hypofyzárních operací. Transkraniální cesta je rezervována zvláště pro případy, kdy selhává šetrnější transnazální technika. Využívá se především u recidiv s přetrvávajícím útlakem zrakových nervů, kdy předchozí transnazální výkon nedosáhl pro tužší konzistenci adenomu potřebné radikality. Další indikační kritérium představuje významný extraselární růst adenomu vytvářející porce tumoru mimo kontury sedla, které jsou obtížně postižitelné transsfenoidálním přístupem. Z tohoto pohledu se transkraniální řešení nabízí například u adenomů nepronikajících kavernózním sinem a šířících se paraselárně shora do střední jámy lební nebo zasahujících preselárně na planum sfenoidale nebo přerůstajících dorzum sedla do retroselárního prostoru. Subfrontální přístup je upřednostňován rovněž v situacích, kdy transnazální cesta představuje riziko infekce pro aktivní rinitidu nebo sfenoidální sinusitidu. Sblížená poloha vnitřních karotid zužujících operační transnazální koridor může být rovněž důvodem volby transkraniálního přístupu.

Orientace transkraniálního výkonu je plánována nejenom s ohledem na rozsah a propagaci procesu. Do předoperační rozvahy operátora spadají i anatomické a funkční souvislosti, jako je dominance hemisfér, rozsah frontálních sinů nebo poloha chiasmatu na MR. U prefixovaného typu chiasmatu je operační prostor mezi optickými nervy značně omezen, proto je operační přístup orientován laterálněji. Pterionální kraniotomie umožňuje v tomto případě postihnout postchiasmatickou porci adenomu v úzkém prostoru mezi n.II a karotidou. Interpedunkulární extenzi tumoru lze odstranit ze subtemporálního přístupu v koridoru mezi karotidou a okrajem tentoria. Výhoda laterálnějšího přístupu spočívá ve snazší identifikaci stopky hypofýzy, která je obvykle v těsném kontaktu s dorzální partií adenomu. U normální polohy chiasmatu nebo u postfixovaného typu je přístup orientován mediálněji. Tato subfrontální cesta dovoluje zmenšení adenomu v úzkém operačním koridoru mezi optickými nervy. Retrochiasmatickou porci s významnou supraselární propagací adenomu lze tímto přístupem postihnout průnikem přes laminu terminalis. Jak vyplývá z výše uvedeného textu, neurochirurgické armamentarium disponuje řadou konvenčních transkraniálních přístupů. V posledních letech se však právě v této oblasti angažují komplexnější operační přístupy kombinující klasické operační techniky s chirurgií baze lební.

Transkraniální přístup je všeobecně považován za výkon zatížený vyšším procentem komplikací, což je dáno nejenom větší invazivitou výkonu, ale i samotnou povahou adenomů. Ty jsou zpravidla větších rozměrů, často v blízkém kontaktu s citlivými strukturami mozku.

Hypotrofnické zrakové nervy jsou vyneseny kapsulou tumoru supraselárně, jsou velice fragilní a jejich poškození může často způsobit i nepřímá manipulace při zmenšování adenomu. Radikálnější uvolnění optického nervu se podaří dosáhnout zpravidla kontralaterálně, což je dáno orientací přístupu a lepší přehledností celého průběhu zrakového nervu.

2.3.2. Problematika radikality operačního výkonu, reoperací u recidiv nebo reziduí.

Rezidua nebo recidivy afunkčních adenomů hypofýzy představují poměrně složitý, jak diagnostický, tak i léčebný problém. Už jejich obtížná zobrazovací detekce, zvláště je-li interval od první operace do 3 měsíců, přináší mnoho sporných momentů do celého rozhodovacího procesu. Pevnější nebo fixované pouzdro adenomu nemá často tendenci ke změně tvaru, jeho obsah je navíc na MR signálově nehomogenní, což připouští kromě přítomnosti nádorového zbytku i možnost pozvolna ustupujících pooperačních změn. Rozsah resekce by proto měl být hodnocen až s dostatečným časovým odstupem od operačního zákroku.

V literatuře tak zaznamenáváme poměrně značnou variabilitu v hodnocení pooperačních zbytků, zvláště po operacích afunkčních makroadenomů. K této literární nejednotě přispívá i nesourodost hodnocených souborů, ve kterých jsou často směřovány operační výsledky bez ohledu na původní velikost adenomu. Významně vyšší operační úspěšnost u mikroadenomů potom statisticky vylepšuje operační výsledky souboru, kde mají zastoupení i makroadenomy. U větších selárních procesů je odstranění adenomu podstatně technicky složitější, často vzhledem k invazi okolí téměř nemožné. Úspěšnost operační léčby u funkčních adenomů literárně dosahuje 60%, u afunkčních je udávána v rozmezí 80-90%. Tento určitý nepoměr lze vysvětlit nejenom iniciální velikostí procesu (funkční adenomy jsou zpravidla díky endokrinopatii detekovány dříve), ale i mírou spolehlivosti v identifikaci reziduí. Rezidua hormonálně aktivních adenomů jsou často pouze předpokládána, a to spíše na základě přetrvávající hormonální nadprodukce než grafického zobrazení. U inaktivních adenomů tento diagnostický moment chybí, a proto jsou často díky zmíněným grafickým nesnázím považovány výkony u těchto procesů za radikálnější než odpovídá skutečnosti.

Pro afunkční adenomy hypofýzy je radikální mechanická redukce pouze dobrým předpokladem vyléčení procesu, nikoliv však jeho zárukou. Recidivy nebo grafické progrese drobných zbytků bývají totiž pozorovány díky pomalé růstové aktivitě i s velkým časovým

odstupem. Nezodpovězenou otázkou zůstává, zda i totální odstranění adenomu může být následováno jeho dalším růstem na podkladě přetrvávající tumorigeneze nebo zda-li všechny recidivy pocházejí bezpodmínečně z operačních zbytků. Ty jsou totiž často tak malé, že spadají pod diagnostickou citlivost dnešních zobrazovacích technik. Růst pooperačního rezidua může být primoperací zpomalen či úplně zastaven i díky narušení cévního zásobení adenomu. Zbytek potom propadá nekrotickým změnám a k jeho objemovému zvětšení nedochází. Naopak lze spekulovat, že poresekční dutina adenomu poskytuje nový prostor pro růst rezidua, kam se nové hmoty adenomu dostávají bez většího odporu. MR potom nedokáže substrátově odlišit adenom od pooperačních změn a zcela přesně odečíst reziduum tumoru. Zpravidla jej však MR nadhodnocuje, protože adenom má spíše tendenci zaplnit preformovanou dutinu.

S přihlédnutím ke všem zmiňovaným aspektům reprezentují AAH růstově velice nehomogenní skupinu onemocnění, ať už je to dáno diagnostickými artefakty objemového měření nebo vlastním, často nevypočitatelným biologickým chováním. Teprve dlouhodobé grafické sledování pooperačních zbytků AAH v trvání minimálně 10 – 15 let nám dá přesnou, objektivní informaci o skutečném stavu onemocnění.

Pooperační rezidua nebo klinicky významné recidivy AAH mohou být léčeny opakovanou operací, radioterapií nebo stereotaktickou radiochirurgií, stejně tak mohou být pouze graficky sledovány. Všechny tyto alternativy mají své výhody i nevýhody, mohou se vzájemně kombinovat, přičemž správnou, racionální volbu představuje současně i více léčebných způsobů. Jako i v ostatních chirurgických oborech platí, že druhá operace bývá z mnoha důvodů složitější, o transsfenoidální reoperaci to platí dvojnásob. Absence důležitých orientačních bodů v jizevnatém, úzkém operačním koridoru přináší nesnáze i zkušenému neurochirurgovi. Základním požadavkem tohoto přístupu zůstává správná identifikace střední čáry, tedy oblast původního rostra sfenoidální dutiny. Vzhledem k pooperačním změnám na septu, které může být defektní nebo deviované, bývá u reoperací zpravidla volen přímý přístup do sfenoidální dutiny. Baze septa je vazivově změněna a při jeho odsunutí klade retraktor elastický odpor. Proto musí být septum ostře odseparováno, nejčastěji raspatoriem. Obtíže činí především správné nasazení branže retraktorů, které nesmí zasahovat hlouběji do sfenoidální dutiny a zároveň musí přesně vymezovat střed přístupu. Ke správné mediální orientaci napomáhají zbytky původního kýlu klínové kosti při bazi, ponechané často záměrně při první operaci. Vertikální pozici retraktoru cíleného na reliéf sedla lze při operaci kontrolovat pomocí bočního RTG snímku. U recidivujících makroadenomů však může být jeho

kontura destruovaná, což tuto jednoduchou metodu limituje. U recidiv je proto dnes běžně používána počítačová navigace usnadňující přesnou orientaci přístupu ve všech rovinách. Znalost použitého materiálu k plastice spodiny sedla při předcházející operaci je pro operátora rovněž podstatná. Odstranění fasciální plastiky vyžaduje často velké úsilí s nutností ostré separace, zvláště je-li materiál vhojen. V této situaci se nabízí použití CO2 laseru, který je příhodný k extirpaci plastiky i pro své hemostatické schopnosti. Operační mikrotechnika selektivního odstranění adenomu se v zásadě neliší od primooperací. S využitím počítačové navigace je snahou nejprve cíleně zasáhnout supraselární porci působící kompresi optiku, a to postupnou koncentrickou technikou. Prvotní evakuace spodních partií tumoru totiž způsobí pokles jeho kupuly a vnese tak nepřesnost do navigační orientace. Situace u recidiv je obtížnější i pro častou přítomnost jizevnatých sept, vytvářejících izolované kompartmenty. Důraz je kladen na uzávěr spodiny sedla, zvláště v situacích pooperační likvorey. Tužší, jizevnatý terén predisponuje k snazšímu průniku mozkomíšního moku.

Literárně uváděná procenta komplikací jsou logicky vyšší než u primooperací. Benveniste [Benveniste 2005] popisuje ve svém souboru 96 pacientů reoperovaných pro recidivy adenomů hypofýzy až 8,1% komplikací, diabetes insipidus v 3,4% případů, nový hormonální deficit u 3,6% reoperantů, sfenoidální sinusitidu a likvoreu v 5%. V jednom případě si závažnější epistaxe vyžádala operační intervenci pro krvácení z vnitřní maxilární arterie. Vyšší množství pooperačních likvoreí, a to v 18% u 17 pacientů s ACTH adenomem, zaznamenal Ram [Ram 1994].

2.3.3. Radioterapie a radiochirurgie

Ozařování adenomů hypofýzy patří po dlouhá léta ke standardní, komplementární modalitě léčby adenomů hypofýzy.

Konvenční frakcionovaná radioterapie nabývá díky rozvoji nových technologií v současné době spíše okrajový význam. Dávky od 40-45 Gy ve 20-25 ozařovacích frakcích byly ve studiích doporučovány jako optimální léčebné schema s maximálním účinkem a minimálními komplikacemi. Terapeutický efekt byl pozorován v intervalech 10, 20 a 30let od ozáření s klesající procentuální úspěšností - 87,5 %, 77,6 % a 64,7 %. Objemová progresse byla navíc registrována v časovém odstupu častěji u adenomů histologicky hodnocených jako onkocytární varianta. U nonokocytárních afunkčních adenomů byly recidivy po radioterapii pozorovány méně častěji [Breen 2005]. Paušální pooperační radioterapie bez přihlídnutí k velikosti rezidua má svoji historickou tradici. V současné době se od ní však mnoho

pracovišť odklání a upřednostňuje její individuální indikaci. Radioterapie aplikovaná po chirurgickém výkonu přinesla v mnoha studiích sice snížení množství recidiv proti kontrolní, neozařené skupině, ovšem za cenu nárůstu postiradiační morbidity [Brada 2005, Bradley, 1994, Rush 1997]. Hormonální hypofyzární dysfunkce je po kombinované chirurgické a radioterapeutické léčbě AAH v literatuře pozorována ve 30-50 % případů. Samotný podíl radioterapie na hormonálním deficitu je odhadován na 23 % pro útlum v thyreotropní ose, 16 % pro osu kortikotropní a 13% pro gonadotropní osu [Tsang 1994]. Nižší procenta komplikací při radioterapii adenomů hypofýzy popsal ve své studii Park. Za důležitý předpoklad nízké morbidity autor považoval dodržení celkové dávky nepřesahující 50 Gy, rozdělené po frakcích od 1,8-2,0 Gy [Park 2004]. Sofistikovanější modifikace v podobě počítačově zaměřené, frakcionované radioterapie, tzv. IMRT (intensity modulated radiotherapy), riziko postradiační morbidity ještě snižují.

V poslední dekádě dostává v selární krajině přednost před klasickou frakcionovanou radioterapií fokusovaná gamaterapie (LGN – Leksellův gama nůž). Tato léčebná metoda, zavedená do praxe švédským neurochirurgem Larsem Leksellem již v roce 1951, využívá destruktivního účinku gama částic emitovaných kobaltovým zdrojem, kolimovaných do malého objemu biologické tkáně při maximální šetrnosti k okolí. Tato stále modernizovaná radiochirurgická technika zaručuje cílenější a zároveň bezpečnější ozáření požadovaného objemu tumoru. Použitím vyšší radiační dávky, aplikované v jedné době, dosahuje kratší terapeutickou latenci než klasická radioterapie. Gama nůž využívá moderních zobrazovacích metod s možností třídimenzionálního plánování. Těží i z rostoucích klinických zkušeností získaných v průběhu své mnohaleté existence, což přináší nejenom nárůst výkonů, ale i lepší klinické výsledky. Zároveň dochází i k podstatnému rozšíření indikačního spektra gamaterapie.

Biologické účinky gamaterapie na histologickou strukturu gonadotrofinomu spočívají ve studii Yamady ve zmnožení konektivní, vazivové tkáně, ohraničující buňky adenomů do malých, izolovaných kompartmentů. Vaskulatura je dilatovaná s množstvím EGF (endothelial growth factor) imunopozitivních endoteliálních buněk onkocytárního adenomu. Elektronmikroskopická struktura cév odhaluje drobné trhlinky mezi endoteliálními buňkami, vyplněné shluky trombocytů. Ostatní buňky mohou vykazovat již dokončenou nekrozu endoteliální struktury. Právě destrukce cévní mikroarchitektury je považována za podstatný faktor biologického účinku gamazáření na tkáň adenomu vedoucí k jeho celkovému objemovému zmenšení [Yamada, 2003, Kamyrio 2001].

Výsledky mnoha literárních studií popisují léčebný úspěch radiochirurgie ve velice širokém spektru. Terapeutickým efektem je chápáno snížení nebo normalizace hormonální nadprodukce u funkčních typů, někdy i spolu se zmenšením adenomu. Pozitivní antisekreční efekt je registrován u funkčních adenomů ve 45 % - 82 % nemocných, kolísajících v závislosti na technických parametrech přístroje a na délce sledování [Landolt 2000, Polock 2002, Sheehan 2000]. Antiproliferativní efekt v intervalu 1-4 let u funkčních typů tumorů je popisován téměř u všech pacientů, resp. k objemové progresi dochází v tomto krátkém časovém úseku jen vzácně [Morange-Ramos 1998]. Optimističtější výsledky byly pozorovány u skupiny ozářených afunkčních adenomů. Zmenšení nebo stabilizace objemu byla u AAH docílena v 93-98 % případů v časovém úseku 2-5 let od radiochirurgického výkonu. Soubory však byly zatíženy vznikem nového hormonálního deficitu v 18% po 2 letech a až 41 % při kontrole po 5 letech [Sheehan 2002, Wowra 2002, Polock 2003]. Polock uvádí jako jednu z možných příčin vysokého procenta nové postiradiační endokrinopatie použitou okrajovou dávku 18 Gy, kterou doporučuje snížit na 16 Gy [Polock 2003]. Neendokrinologické komplikace této léčebné modalit jsou vzácné, jestliže radiační jednorázová dávka nepřesáhne 8 Gy v oblasti zrakových nervů. Incidence poškození optické dráhy kolísá podle literárních zdrojů od 0 do 7 % [Kondziolka 2003, Losa 2004, Petrovich 2003]. Tří až pětimilimetrový rezervní lem likvorového prostoru mezi chiasmatem a kupulou adenomu by měl být dostatečně bezpečnou vzdáleností zabraňující této komplikaci. Tento obecně tradovaný požadavek několikamilimetrové vzdálenosti od funkčně významných struktur není však v současné době nepřekonatelný, jestliže se použije precizní plánování a nepřekročí se meze tolerance radiační zátěže [Vladyka 2000]. Diabetes insipidus patří naopak k velmi vzácným komplikacím a v mnoha klinických seriích nebyl prakticky zaznamenán [Feigl 2003, Pollock 2003]. Riziko vzniku neoplazmatu v ozářeném místě je u této metody minimální ve srovnání s 3% výskytem indukovaného tumoru po frakcionované radioterapii [Breen 1998].

Z publikovaných údajů pražského pracoviště gama nože Nemocnice Na Homolce vyplývá, že antiproliferativní efekt u souboru adenomů (zastoupení AAH v celkovém souboru 163 pacientů představovalo jen 18,4%) byl docílen za 1-2 roky po ozáření u všech nemocných, přičemž prokazatelné zmenšení adenomů bylo dosaženo u poloviny pacientů. Průměrná okrajová dávka 20 Gy nevyvolala u nemocných nežádoucí účinky. Hormonální normalizace byla docílena u 50,4% pacientů s funkčními adenomy hypofýzy – konkrétně u akromegaliků ve 43%, dále u 85% nemocných s m.Cushing, 22% s Nelsonovým syndromem a u 61% pacientů s prolaktinomy. Protisekreční dávka byla vyšší, 10-45 Gy, medián 35 Gy. Zvýšení dávky přivedlo u funkčních adenomů parciální hypopituitarismus ve 3,1%,

panhypopituitarismus u 0,6% a homonymní hemianopsii rovněž u 0,6% nemocných. Jako bezpečná střední radiační dávka byla stanovena 15 Gy pro gonadotropní a tyreotropní funkce a 18 Gy pro adrenokortikotropní funkce. Nejcitlivěji reaguje na gamaterapii somatotropní osa, sledována gonadotropní, kortikotropní a nakonec tyreotropní osou [Vladyka 2000, 2003]. V tomto souboru byl sledován i protirůstový efekt gamaterapie u 30 afunkčních adenomů hypofýzy. Prokazatelné zmenšení procesu bylo v intervalu 1-2 let dosaženo u 52% nemocných (u mikroadenomů 52%, u makroadenomů 49%), ostatní adenomy nezaznamenaly objemovou progresi. V této sestavě pacientů autoři nepopisují během dvouletého sledování žádné nové zhoršení hypofyzárních nebo zrakových funkcí v souvislosti s aplikovanou gamaterapií [Vladyka 2000].

Radiochirurgie pomocí Leksellova gama nože je v současné době považována za spolehlivou doplňkovou metodu mikrochirurgie a medikamentózní terapie. Její nevýhodou zůstává dlouhá terapeutická latence, což může mít svůj význam u hormonálně aktivních adenomů, kde je často kladen požadavek na rychlé snížení hormonální hypersekrece. U nemocných starších nebo interně limitovaných může být tato neinvazivní technika i metodou první léčebné volby. Gama nůž je dále indikován k ošetření pooperačních reziduí uložených v oblastech, kde je chirurgický zákrok zatížen vysokým rizikem komplikací, například v kavernózním sinu. Výhodou může být i ozáření tvrdé pleny postižené mikroinvazí buněk adenomu. Gamaterapii na našem pracovišti doporučujeme na základě pooperačních MR kontrol v intervalu 3, 6 a 12 měsíců po operaci, máme-li dojem, že reziduum tumoru je pro reoperaci nepřijatelné a ohrožuje nemocného růstovou progresí.

2.4. Růstová aktivita adenomů hypofýzy. Přehled poznatků o markerech proliferace a onkogeneze.

Moderní metody molekulární biologie umožnily v posledních desetiletích blíže nahlédnout do chování adenomů. Mechanismus tumorigeneze a multiplikace nádorových buněk adenomů byl intenzivně studován a postupně odhalován zvláště v posledních dvou desetiletích. Hormonálně afunkční adenomy reprezentují růstově velice různorodou skupinu. Jejich růst je zpravidla velmi pomalý, přesto zaznamenáváme u některých významnější růstové progresy.

Vzhledem k faktu, že buněčný pleomorfismus není u hypofyzárních adenomů spolehlivou známkou růstové aktivity tumoru, a že 40-50% buněk adenomů jeví určité

histologické známky lokální invaze, bylo snahou identifikovat jiné parametry signalizující rizikové, agresivnější chování některých adenomů. Procento recidiv těchto agresivnějších typů je potom logicky vyšší, ať už je způsobeno velikostí pooperačního rezidua nebo vlastní proliferací schopností. Indikátory růstu detekované pomocí specifických protilátek, které by označovaly potenciálně nebezpečné adenomy se sklony k rychlejšímu růstu, se však přes veškeré úsilí nepodařilo spolehlivě identifikovat. Existuje sice mnoho literárních prací popisujících pozitivní korelace proliferčních markerů s rychlostí růstu afunkčních adenomů hypofýzy, nicméně spolehlivý ukazatel vhodný k predikci jejich chování nebyl všeobecně přijat. Pro zodpovězení této otázky bylo použito mnoho moderních detekčních technik, například DNA cytometrie s kvantifikací mitóz a chromozomálních aberací, imunohistochemické vyšetření k identifikaci cyklinů, růstových faktorů a inhibičních proteinů.

Cykliny regulující různé fáze buněčného cyklu pomocí cyklin-dependentních kináz byly předmětem výzkumu mnoha pracovišť. Cyklin D1 byl imunohistochemicky častěji nalezen u agresivnějších afunkčních adenomů než u ostatních typů [Jordan 2000]. Turner prokázal souvislost jeho četnosti s velikostí tumoru a mitotickými indexem Ki-67 [Turner 2000]. Obdobného výsledku dospěl Nakabayashi, který vysledoval pozitivní lineární závislost mezi výskytem cyklinu A a MIB-1 indexem korelujícím s vyšší četností recidiv [Nakabayashi 2001].

Cyklin PCNA (proliferční buněčný nukleární antigen) se podílí na DNA syntéze buněčného cyklu. Index tohoto intranukleárního proteinu dosahuje u normální hypofýzy extrémně nízkých hodnot, zatímco u adenomů kolísá v řádově vyšší hladině, a to od 1 % až po 19 % . Při srovnání indexů zjištěných u primárních a recidivujících adenomů byl zjištěn statisticky významný rozdíl, a to 1,88 % versus 1,06 % [Klencki 2001]. V jiné studii byl rozdíl ještě statisticky přesvědčivější , 13 % versus 19 % , kdy vyšší PCNA index znamenal i kratší interval bez průkazné recidivy adenomu [Hsu 1993]. Naopak ostatní autoři tento proliferční antigen nepřijali s poukazem na jeho obtížnou detekci, projevující se nekonzistentním zbarvením jader a artefakty pozadí [Thapar 1996].

Modernější aplikace imunohistochemických technik umožnily kvantifikaci proliferčního antigenu Ki-67, který se v mnoha studiích projevil jako velmi nadějný růstový ukazatel. Preferenčně je tento nukleární protein , který je známý ve dvou isoformách - 345 a 395 kDa, exprimován v aktivních fázích buněčného cyklu (G1, S, G2, M fáze) , v klidové fázi G0 není přítomen. Jeho detekce se provádí pomocí specifické protilátky MIB-1 na

formalínem fixovaných, parafinových řezech. V humánní onkologii má důležitý význam při stanovování aktivity onemocnění například u sarkomů, adenokarcinomů prostaty a karcinomu prsu. Podle WHO klasifikace z roku 2000 jsou adenomy s proliferačním indexem Ki-67 větším než 3% označovány za atypické se zřetelem na možnost invazivnějšího a rychlejšího růstu, tedy i větší pravděpodobností recidiv. Doplňkový morfologický kód ICD (Mezinárodní onkologické klasifikace) 8272/1 v inovované WHO klasifikaci Tumorů endokrinních orgánů těmto adenomům rovněž přisuzuje hraniční nebo neurčité chování [DeLellis 2004].

Dále podle mnohých autorů sehrává důležitou roli v patogenezi růstové agresivity supresní gen, nukleární fosfoprotein p53. Jeho divoká forma je přítomna v široké škále normálních buněk a jeho chování odpovídá tumorsupresní funkci. Má krátký biologický poločas v trvání minut, proto je jeho detekce pomocí imunohistochemických metod obtížná. Somatická mutace p53 genu působí naopak jako dominantní transformační onkogen. Nachází se velmi často u humánních neoplázií, například u karcinomu prsu, tlustého střeva, žaludku, melanomu, embryonálního karcinomu, karcinomu močového měchýře a ovaria, dále karcinomu měkkých tkání. Protein p53 kódovaný podle mutovaného genu je stabilnější a proto i dobře detekovatelný. Jeho spolehlivost v predikci agresivního chování hypofyzárních adenomů je v literatuře diskutována a není ve svých závěrech jednotná. Ve studii Thapara byla exprese mutace genu p53 přítomna u 100% pituitárních karcinomů, v 15,2 % byla registrována u invazivních adenomů a ani v jednom případě nebyla zastižena u benigních adenomů [Thapar 1996]. Další práce rovněž demonstrovaly přítomnost p53 proteinu u invazivních ACTH adenomů až v 16 % [Buckley 1994], zatímco u neinvazivních typů zastižen nebyl [Copelli 1999]. Jiné studie ovšem tuto závislost tak přesvědčivě nepotvrzovaly. Stejně tak imunopozitivita proteinu p53 nekorespondovala s rychlejším růstem nebo malignizací adenomů [Saeger 1999, Muller 1999]. Rozdílné výsledky studií lze interpretovat i tak, že pozitivita proteinu p53 může znamenat akcelerovaný nebo invazivní růst adenomu, naopak jeho nepřítomnost nevylučuje jeho agresivnější chování nebo dokonce malignizaci.

Snaha nalézt spolehlivější růstový ukazatel adenomů směřovala v dalších letech pozornost k DNA topoisomerase II alfa jako imunohistochemickému markeru proliferace detekovaném v jádrech tumorózních buněk. Gonadotropní adenomy, adenomy z nulových buněk a ACTH adenomy se odlišovaly nižším indexem topo II alfa proti skupině hypofyzárních karcinomů a klinicky němých (silent) adenomů. Nebyla shledána závislost na pohlaví a vaskularitě, naopak vyšší index topo II alfa korespondoval s nižším věkem nemocných, invazivitou a MIB-I indexem, a to zvláště u afunkčních adenomů [Vidal 2002].

Další studie přinášely spíše rozporuplné závěry, nicméně se shodovaly v závěru, že topo II alfa index není spolehlivější než MIB-I index, pouze je přínosnější ve sledování efektu antineoplastické léčby [Vidal, 2002].

Matrix metalloproteinasa (MMP) patří mezi endopeptidasy degradující pojivovou tkáň a podílející se na angiogenezi a kapilární infiltraci tumorózních buněk. Sledování MMP-9 u invazivních makroprolaktinomů nastínilo možný podíl na invazivních vlastnostech procesů [Turner, 2000]. Urokinasa (UPA) byla zastížena s vyšší účastí u inaktivních invazivních adenomů, nicméně v souhrnu u všech typů adenomů nebyla nalezena závislost mezi agresivitou a vyšší hladinou tohoto markeru. Stejně tak nebyla vysledována korelace mezi invazivitou a přítomností jejího receptoru (UPAR) nebo inhibitoru (PAI-I) [Wilczak 2001]. Cyklooxygenasa-2 (COX-2), enzym katalyzující přeměnu arachidonové kyseliny na prostaglandin, je označována mnohými autory jako potenciální cíl genetické mutace spojený s tumorózním růstem rozmanitých humánních neoplázií. Ve studii zahrnující 164 resekovaných adenomů byla shledána signifikantní závislost její exprese na hladině MIB-I indexu, věku i pohlaví, dále stupni angiogeneze, typu adenomu i jeho velikosti, míře invaze i metastatickém potenciálu [Vidal, 2003]. Při růstu adenomů sehraává angiogeneze významnou roli, podílí se na invazivitě i růstu procesu. Při absenci vaskularity tumoru dochází při dosažení určitého kritického objemu k nekróze adenomu. Korelace se stupněm angiogeneze potvrzuje domněnku možné spoluúčasti COX-2 na její regulaci [Vidal 2001].

V posledních letech vstupuje do popředí vědeckého zájmu studium apoptózy hypofyzárních adenomů, tedy naprogramované, spontánní smrti buňky. Tento fenomén probíhá za fyziologických i patologických podmínek s charakteristickými morfologickými a biochemickými projevy s často nepřesným ohraničením od nekrotických pochodů. Apoptóza v nádorové tkáni představuje do jisté míry opačný biologický trend než proliferace. Její kvantitativní vyhodnocení může být do budoucna významným komplementárním údajem, či novým, nezávislým poznatkem svého druhu o incidenci apoptózy v hypofyzárních nádorech daného typu. V mnoha studiích se osvědčila detekce typického markeru apoptózy (epitelového původu), jímž je specifický fragment cytoskeletálního proteinu, cytokeratinu-18 (CK-18). Tento fragment je typický pro štěpení CK-18 kaspasou-3, jež je hlavním enzymem apoptotické kaskády. Apoptóza může být rovněž identifikována pomocí elektronové mikroskopie, která zobrazuje objemovou redukci buněčného objemu, jadernou pyknózu s perinukleárním halo a lytické změny buněčných organel. Zjištění míry apoptózy bez ohledu na použitou detekční techniku však naráží na poměrně malý odběr vzorku, který dostatečně

procentuálně nereprezentuje celou buněčnou populaci a proto index apoptózy vykazuje často nepřesné a tím pádem i nereprodukovatelné hodnoty.

3. Předpoklady a cíle studie:

Afunkční adenomy hypofýzy jsou přednostně léčeny chirurgicky. Medikametózní léčba není na rozdíl od hormonálně aktivních adenomů účinná. Pooperační rezidua či recidivy hormonálně inaktivních adenomů jsou i přes technologický pokrok v operační technice registrovány při grafických kontrolách až v 20-32% případů [Bradley 1994, Ciric 1983, Comtois 1991, Ebersold 1986]. Radikalita operačních výkonů do značné míry závisí na konzistenci tumoru, počáteční velikosti adenomu a dále na invazivitě procesu [Burger 2002], tedy schopnosti nádorových buněk prorůst do sousedních kompartmentů tureckého sedla. Právě invazivita adenomů znesnadňující radikalitu operačního výkonu je obviňována z přítomnosti pooperačních reziduí, která zapříčiňují svým dalším růstem symptomatické recidivy.

Při formulaci cílů našeho sledování pooperačních zbytků AAH jsme vycházeli z následujících **předpokladů**:

- a) Afunkční adenomy hypofýzy jsou růstově heterogenní skupinou. Ve velké míře jsou jejich růstové křivky velmi pozvolné bez významnějších růstových výkyvů. Nicméně jsou pozorována i agresivně rostoucí rezidua, a to zvláště u mladších pacientů, která se vymykají běžným růstovým schématům charakteristickým pro toto onemocnění. Je velmi málo literárních informací o zákonitostech přirozeného růstu těchto adenomů. Jejich růst je považován za konstantně exponenciální bez ohledu na iniciální objem s výjimkou situací akcelerujících jejich růstovou progresi (krvácení, ischemie, tvorba pseudocyst).
- b) V literatuře není dořešena podstata invazivity adenomů ani její potenciální vliv na rychlost růstu. Široce je rovněž diskutován vliv věku nemocného nebo pohlaví na proliferační potenci afunkčních pituitárních lézí.
- c) Reziduum adenomu může být indikací k reoperaci, k pooperačnímu ozáření nebo může být doporučeno ke sledování pomocí MR v určitých časových intervalech. Role preventivního pooperačního ozáření rezidua je stále kontroverzní.
- d) Prediktivní hodnota proliferačních markerů je u AAH v literatuře stále předmětem diskuze.

Při pooperačních kontrolách jsme někdy překvapeni nálezem většího rezidua než by odpovídalo dojmům operátora. Grafická rezidua potom v pooperačním období sledujeme v časových intervalech, které volíme spíše intuitivně. Hledali jsme příčiny těchto diskrepancí ve snaze promítnout jejich analýzu do našich pooperačních postupů. Přitom jsme narazili na teoretické otázky predikce růstu adenomů, jejichž řešení již nepatří do standardních postupů léčby. Je nejenom teoreticky složité, časově náročné, ale přitom současně i velmi zajímavé nahlédnout do mikroskopické roviny této problematiky. Imunohistochemická detekce proliferačního antigenu byla prováděna v naší neuropatologické a biochemické laboratoři. Kvantifikace proliferačního indexu v histologickém materiálu zaznamenala v průběhu studie metodický vývoj od manuálního k softwarovému měření pozitivních buněk. Autor sám se po zacvičení zkušenými kolegy podílel velkou měrou na hodnocení imunohistochemických preparátů.

Na základě výše formulovaných předpokladů jsme stanovili konkrétní **cíle** naší studie.

- a) Na základě přesného zhodnocení radikality operačních výkonů zjistit závislost radikality výkonu na konzistenci tumoru a invazivitě procesu.
- b) Sledováním růstové dynamiky pooperačních reziduí AAH pomocí MR s výpočtem jejich objemů stanovenit TVDT (tumor volume doubling time – předpokládaný čas zdvojnásobení objemu adenomu) [Tanaka].
- c) Korelovat rychlosti růstu reziduí (TVDT) s dalšími faktory – věk nemocného, konzistence tumoru, pohlaví, invazivní způsob růstu.
- d) Zjistit, zda marker proliferace (Ki-67) sledovaný v teoretické části studie je dostatečně spolehlivým ukazatelem růstové aktivity afunkčních adenomů.
- e) Stanovit způsob pooperačního sledování na základě multifaktoriálního vyhodnocení prediktivních parametrů růstu.
- f) Stanovit indikační algoritmus časného pooperačního ozáření.

4. Vlastní soubor operovaných pacientů

4.1. Metodika:

V souboru sledujeme všechny nemocné, kteří byli u nás operováni jakoukoliv přístupovou cestou v intervalu let 2000-2007 pro afunkční adenomy hypofýzy, a u kterých na pooperačních MR kontrolách registrujeme reziduum adenomu. Do souboru nebyli začleněni nemocní, kde pooperační MR neprokázala reziduum tumoru nebo byli v průběhu sledování ozáření jakoukoliv radioterapeutickou technikou.

Invazivní charakter růstu byl posuzován na základě předoperační MR, dále dle pooperačního dojmu neurochirurga. V identifikaci invazivity jsme se opírali i o zhodnocení případné durální infiltrace buňkami adenomu z oblasti spodiny sedla neurohistopatologem. Rozsah resekce výkonu byl vyjádřen při objektivním hodnocení MR v procentech zmenšení původního objemu adenomu. Subjektivně stanovená radikalita čerpala z odhadu operátora, tedy subjektivní informace uvedené v operačním nálezu, jejíž zdroj pocházel ze sondáže orientačních bodů při operaci (dorsum a tuberkulum sedla, vizualizace diafragmatu). V některých případech čerpala ze zhodnocení operačním radikality pomocí endoskopu.

Konzistence tumoru byla rovněž zjišťována retrospektivně z operačních nálezů. Byla hodnocena ve škále „řídký, „tuhý“ a adenom „smíšené“ konzistence.

Studie splňuje kritéria prospektivně stanovených podmínek zařazení do souboru s retrospektivních čerpáním dat z operačních nálezů. Sledování souboru nemocných mělo od roku 2004 již charakteristiky prospektivní studie.

Na základě vytyčených cílů sledování jsme do souboru zařadili pouhou část našich operantů, kteří ve stanoveném intervalu let 2000 – 2007 splňovali níže uvedená kritéria:

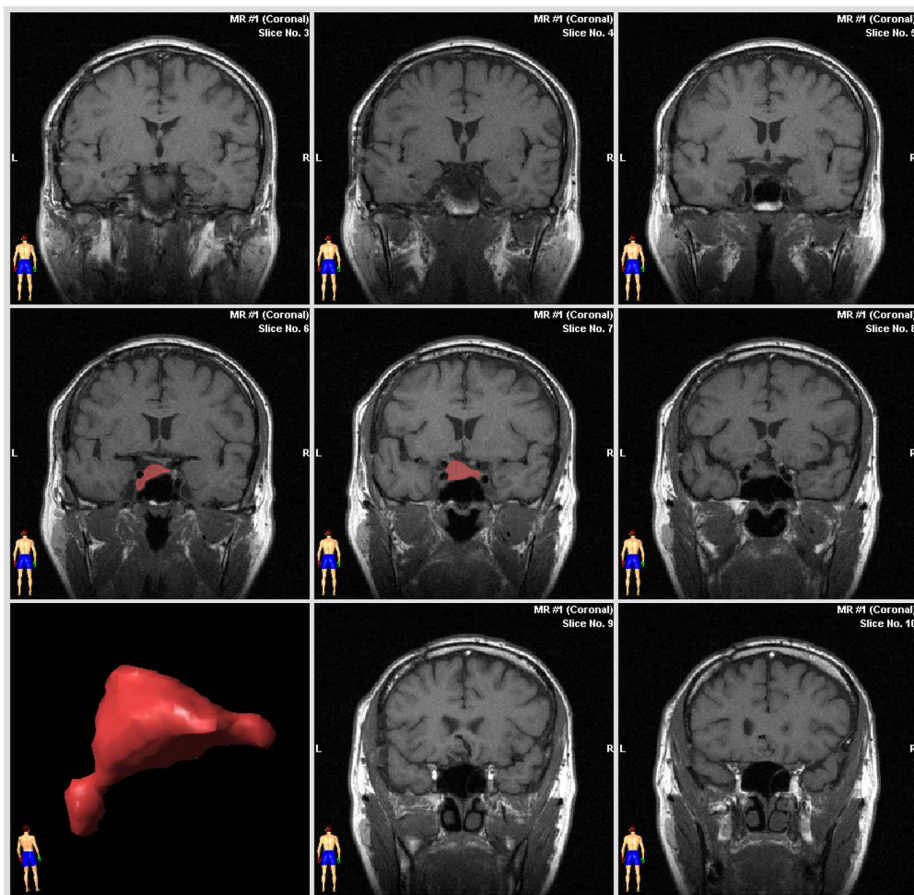
Kritéria souboru:

- a) Histologicky verifikovaný afunkční adenom hypofýzy.
- b) Detekovatelné reziduum adenomu (minimálně 100 mm³) na pooperační MR 2 a více měsíců po operaci.
- c) Provedení další kontrolní MR v časovém intervalu delším než 3 měsíce od prvního vyšetření.

- d) Absence radioterapie nebo jiné adjuvantní léčby, která by zkreslovala přirozený růst adenomu.
- e) Imunohistochemická detekce sledovaného markeru, proliferačního antigenu Ki-67, z materiálu získaného při operaci pro biopsii, dále imunohistochemická endokrinní charakteristika těchto adenomů.

MR zobrazení k výpočtu objemu rezidua adenomu

K odečtu pooperačního rezidua byla standardně používána MR v koronárních nativních T1-vážených skenech s tloušťkou řezů 3 – 4 mm. Data exportovaná ve formátu Dicom byla dále zpracována plánovací stanicí neuronavigace firmy BrainLab s bitmapovou manuální segmentací.



Obr.č.7: Výpočet objemu rezidua pomocí bitmapové manuální segmentace navigačního systému BrainLab s výsledným prostorovým zobrazením procesu.

Do výpočtu objemu adenomu nebyla zahrnována cysta ani krvácení, odečítána byla i fasciální plastika o objemu cca 50 mm³. Výpočet TVDT ve dnech, tedy času předpokládaného objemového zdvojnásobení tumoru, byl prováděn podle vzorce:

$$TVDT = t \times \log 2 / \log (V_t/V_o)$$

(TVDT - tumor volume doubling time, t - čas mezi MR ve dnech,

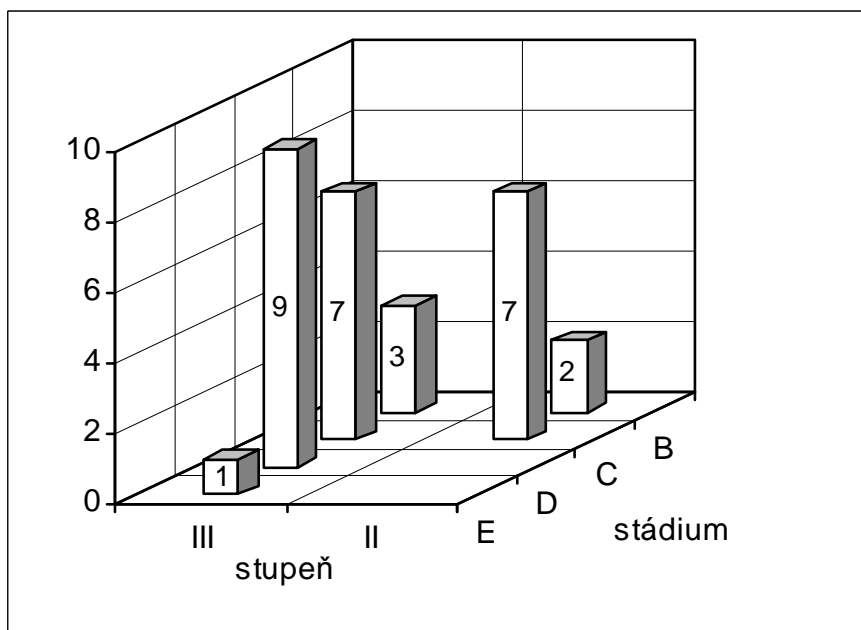
V_o - iniciální objem tumoru v mm³, V_t - konečný objem tumoru v mm³) [Tanaka 2003].

4.2. Materiál:

V letech 2000 až 2007 jsme operovali pro afunkční adenomy hypofýzy celkem 105 pacientů. Provedeno bylo celkem 124 operací. Převažujícím typem operačního výkonu byla transnazální adenomektomie ve 111 případech (89,5 %). Transkraniální přístup byl zvolen ve 13 případech (10,5 %). Celkově byl na kontrolní MR zaznamenán pooperační zbytek adenomu u 57 případů (46%), z toho bylo 19 nemocných indikováno k radiochirurgii Leksellovým gamanožem (33 %). U 8 nemocných s pooperačním reziduem chyběla druhá MR v časovém odstupu minimálně 3 měsíce od prvního vyšetření. U 1 pacienta nebylo možno z technických důvodů zpracovat preparát k výpočtu proliferativního indexu.

Užší soubor nemocných splňujících výše stanovená kritéria čítal do konce roku 2007 celkem 29 pacientů, z toho 22 mužů a 7 žen. Tito pacienti nepodstoupili kromě chirurgické intervence žádnou další adjuvantní terapii a v pooperačním období absolvovali 2 kontrolní MR (8 pacientů, 28 %), případně 3 vyšetření (21 pacientů, 72 %) umožňující sestavení růstové křivky rezidua. Průměrný věk souboru dosáhl 62,9 roku (nejmladší 41 let, nejstarší 77 let), u mužů 63,0 a u žen 62,5 let.

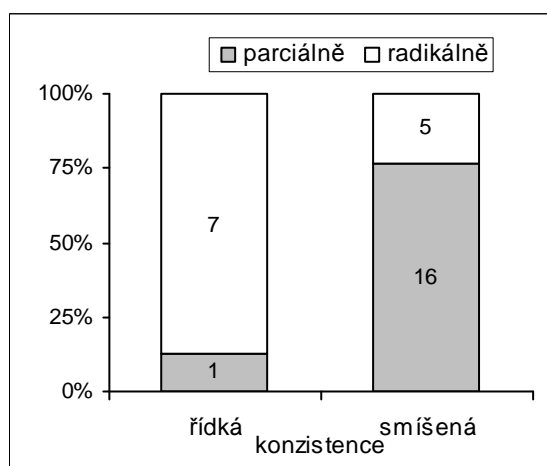
Makroadenomy byly na základě předoperačního grafického nálezu rozčleněny podle Hardyho klasifikace [Hardy 1977, 1976, 1991]. Stupeň II byl klasifikován na předoperační MR u celkem 9 nemocných (32 %), stupeň III u 20 nemocných (69 %). Do stadia B bylo zařazeno 5 nemocných (17 %), do stadia C 14 pacientů (49 %) a do stadia D 9 pacientů (31 %). Kritéria čisté paraselární invaze ve stadiu E splňoval pouze 1 pacient (3,5 %). Grafické nebo histologické známky invazivity procesu jsme identifikovali celkem u 22 nemocných (76 %). Převažujícím operačním výkonem byla transnazální operace ve 26 případech (90 %). Subfrontální operační přístup byl indikován u 3 nemocných (10 %). O primooperaci se jednalo v 19 případech (65,5 %), 9 pacientů bylo operováno podruhé (31 %), 1 nemocný potřetí (3,5 %).



Graf č.1: Zastoupení makroadenomů našeho souboru podle Hardyho klasifikace. Ze sloupcového grafu vyplývá, že dominantní část našeho souboru pooperačních reziduí představovaly makroadenomy iniciálního stupně III (61%), stádia C a D (80%).

4.3. Výsledky

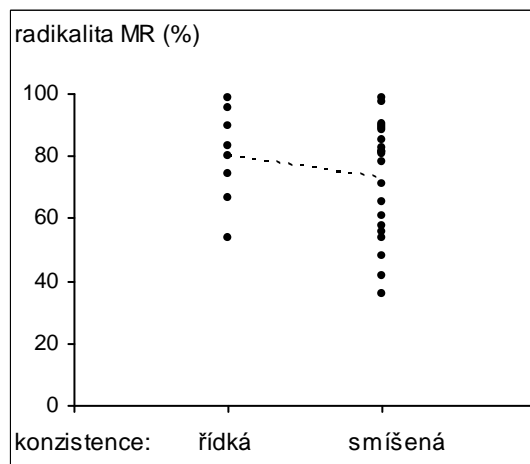
Radikalitu operačního výkonu jsme u našich 29 pacientů hodnotili jak subjektivní, tak i objektivní metodou. Radikální odstranění procesu bylo podle pooperačního posouzení operátora dosaženo ve 12 případech (41 %). U 17 operací (59 %) byl výkon pouze parciální s očekávaným reziduem. Jako limitující faktor takto hodnocené radikality operačního výkonu lze označit při transnazálním přístupu konzistenci tumoru.



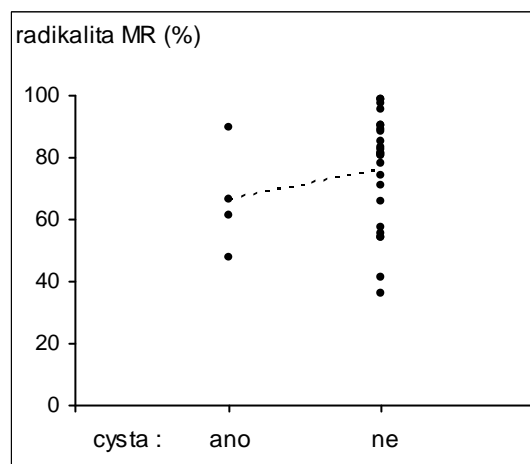
Graf č.2: Radikalita operace posuzovaná neurochirurgem s aspektem na konzistenci procesu. Z grafu vyplývá známá skutečnost o obtížnějším radikálním odstranění adenomů smíšené konzistence.

Řídké procesy u 8 nemocných se podařilo odstranit radikálněji než adenomy smíšené konzistence (21 adenomů). Na subjektivní radikalitu operace neměla statisticky vliv přítomnost cysty ($p=0,47$ - chí kvadrát test). Radikalita nezávisela rovněž na pohlaví ($p=0,43$), nekorelovala ani s invazivitou procesu ($p=0,92$).

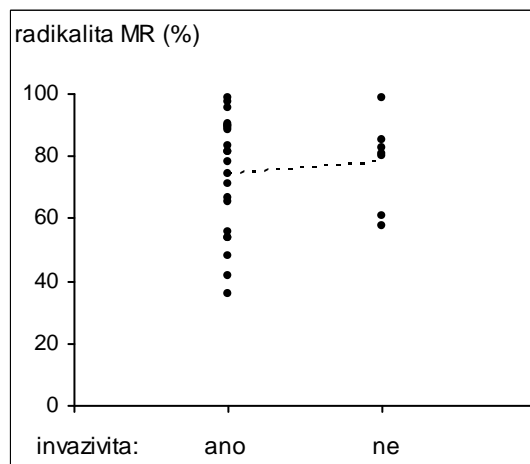
Rozsah výkonu, stanovený na základě srovnání předoperační a pooperační MR, dosahoval v průměru 75 % (medián 81 %) u všech výkonů. U primárních operací (19 výkonů) činil v průměru 76 % (medián 81 %), u druhých operací (9 výkonů) 70 % (medián 74 %). U třetí operace byla překvapivě resekce 98 % původního objemu rezidua i díky příznivé konzistenci adenomu (1 výkon). Celkově u opakovaných operací (10 výkonů) bylo dosaženo 72% zmenšení iniciálního objemu procesu. Objektivní, graficky hodnocená radikalita operačního výkonu nekorelovala překvapivě s konzistencí procesu ($p=0,37$), přítomností cysty ($p=0,31$), invazivitou ($p=0,8$), pohlavím ($p=0,65$) a nekorespondovala ani s věkem operantů ($p=0,4$).



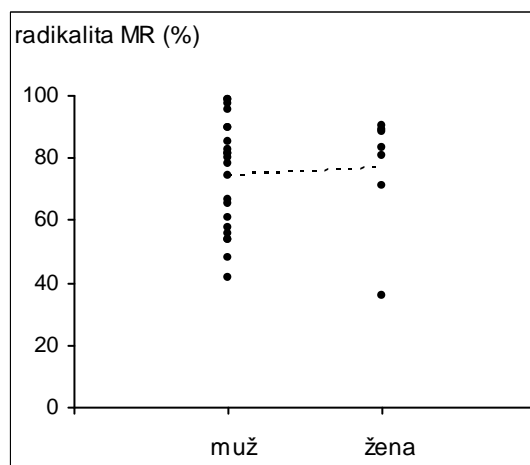
Graf č.3: Vztah radikality (procentuální zmenšení původního objemu adenomu dle MR) a konzistence procesu. Rozsah resekce byl poněkud rozsáhlejší u řidších procesů. Tento vztah však na statisticky významné úrovni nekoreloval ($p=0,37$).



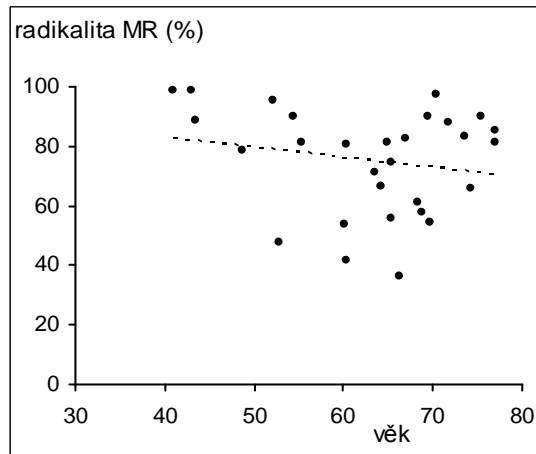
Graf č.4: Závislost radikality a přítomnosti cysty na předoperační MR. Nebyla prokázána statisticky významná závislost těchto dvou veličin ($p=0,31$).



Graf č.5: Korelace radikality a invazivního charakteru růstu. Vztah nebyl shledán jako statisticky významný ($p=0,8$). Nebyl potvrzen předpoklad, že invazivnější adenomy byly odstraněny méně radikálně.

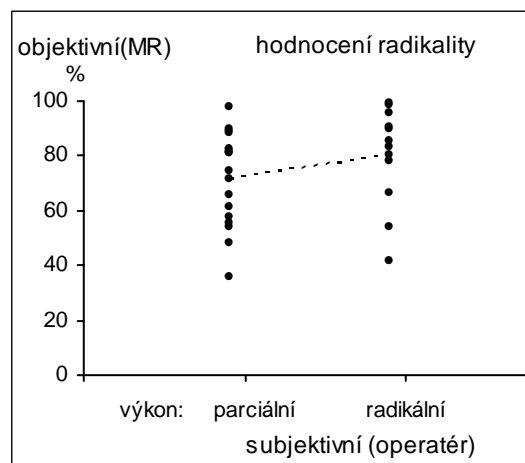


Graf č.6: Radikalita výkonů nekorespondovala s pohlavím ($p=0,65$).



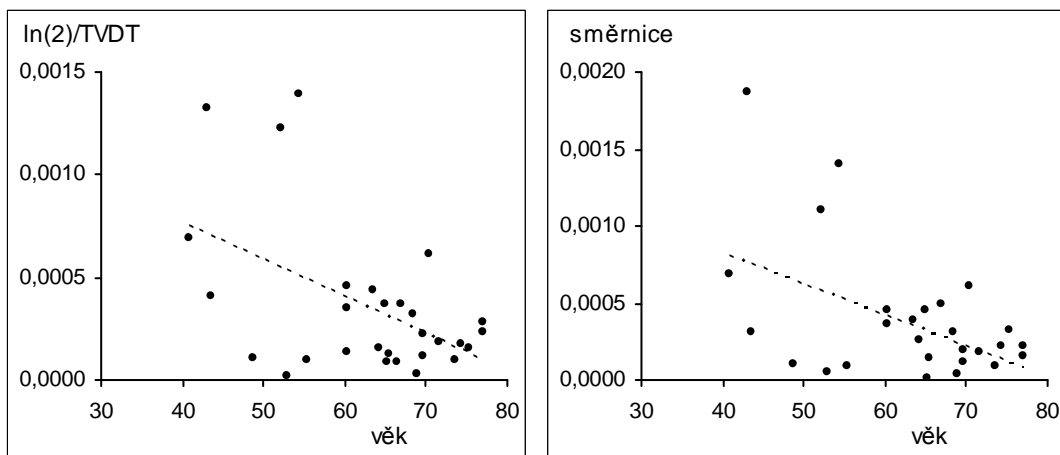
Graf č.7: Závislost rozsahu výkonu na věku. Nebyla nalezena statisticky významná korelace těchto dvou faktorů ($p=0,4$).

Na statisticky významné hladině nebyl rovněž nalezen vztah mezi oběma metodami stanovení vlastní radikality ($p=0,13$ – Mann Whitney test), tedy mezi objektivním měřením rezidua podle kontrolní MR v časovém odstupu a metodou subjektivního posouzení operátérem při operaci.



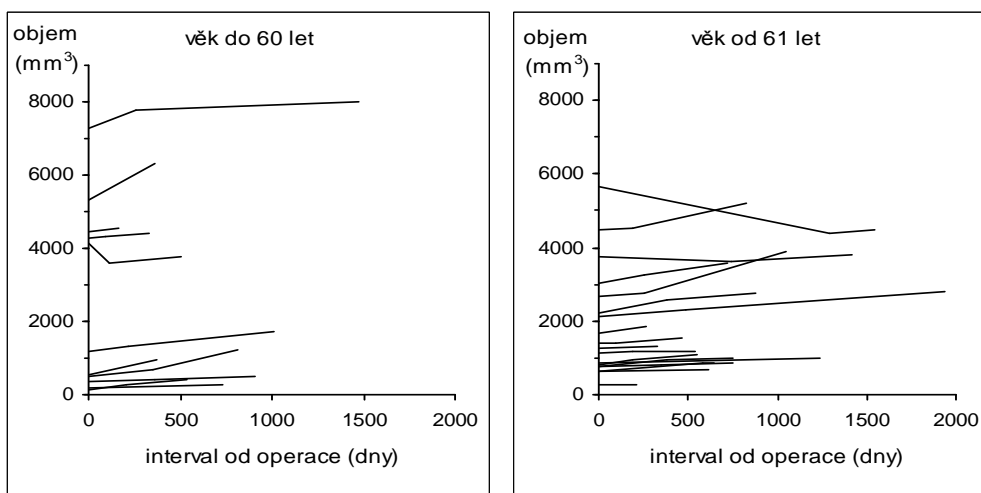
Graf č.8: Graf ilustrující vztah objektivního hodnocení rozsahu resekce (v % zmenšení původního objemu adenomu dle MR) na ose „y“ a subjektivního posouzení operátérem dle peroperační situace na ose „x“. Statistická korelace obou těchto metod neukazuje na statisticky významnější diferenci ($p=0,13$).

Rychlost růstu pooperačních reziduí AAH byla kvantifikována výpočtem předpokládaného času zdvojnásobení objemu procesu (TVDT), jehož matematickým předpokladem je konstantně exponenciální růst adenomu. Tato hodnota kolísala v našem souboru v rozmezí od 496 dnů do 30447 dnů, průměrná hodnota dosáhla 5146 dnů (medián 3127 dnů). U 3 nemocných měla růstová křivka mezi prvním a druhým vyšetřením MR klesající tendenci. Zpracováním těchto údajů jsme odhalili statisticky významnou korelaci (Pearsonův korelační koeficient) rychlosti růstu rezidua na věku nemocných (inverzní hodnota TVDT s $p=0,006$, přirozený logaritmus TVDT s $p=0,09$, směrnice přímky proložené závislostí 2-3 hodnot logaritmu objemu rezidua na době od operace mající $p=0,009$).



Graf č.9: Závislost TVDT (čas předpokládaného objemové zdvojnásobení tumoru) ve statisticky upravené podobě – vlevo inverzní hodnota TVDT v závislosti na věku, vpravo směrnice v závislosti na věku.

Křivky růstu byly arbitrárně rozděleny do dvou věkových kategorií. Strmější nárůsty se objevily u nemocných ve skupině do 60 let věku. U pacientů ve věku 61 let a starších byly pozorovány pouze pozvolnější růstové progresse.



Graf č.10: Růstové křivky u pacientů konstruované na podkladě naměřených objemů reziduí v čase od operace.

Vlevo jsou zařazeni nemocní do 60 let věku (n=11), vpravo pacienti starší 61 let (n=18).



Obr.č.7: Příklad 54letého muže radikálně odoperovaného subfrontálně pro gigantický adenom hypofýzy, pro objemovou progresi rezidua reoperován po 3 letech transnazálně (iniciální objem $V_0=508\text{mm}^3$ na snímku uprostřed, finální objem $V_t=1235\text{mm}^3$ za čas $t=815$ dnů na snímku vpravo).

4.4. Diskuze

Léčba operačních reziduí AAH představuje v literatuře stále diskutovaný problém s množstvím nezodpovězených otázek. Už samotná jejich diagnostika využívající nejmodernějších grafických metod je zatížena množstvím nepřesností. Stejně tak existuje mnoho literárních nejistot v pohledu na spolehlivost proliferačních faktorů jako předpovědních ukazatelů rychlejšího růstu reziduí. Všeobecně jsou afunkční adenomy považovány za benigní, pomalu rostoucí léze, u nichž není agresivní růst, zvláště u mladších

věkových skupin, výjimkou. Růst adenomů je všeobecně dán poměrem proliferační a regresivní složky, kterou představuje nekróza a apoptóza. Přirozená buněčná smrt se přitom podle některých autorů uplatňuje na regresivních procesech jen 1,8% podílem [Kontogeorgos 1997]. Na rozdíl od hormonálně aktivních adenomů je léčbou první volby u AAH mechanická cytoredukce procesu, tedy operace.

Převažujícím operačním přístupem byla v našem souboru selektivní transnazální adenomektomie. Propracovaná mikrotechnika je doposud považována pro pacienta za nejšetrnější, kosmeticky nejpriznivější a zároveň nejbezpečnější [Náhlovský 2004]. Na našem pracovišti je používána v zásadě ve dvou variantách. První přístup spočívá v submukózní separaci podél septa v pravé nosní dírci s odlomením přepážky před sfenoidálním rostrem na levou stranu. Druhý, direktní přístup proniká přes nosní sliznici až těsně před klínovou dutinou a šetří tak mukózu v oblasti septa [Sameš 2005]. Následná mediální sfenoidotomie s přístupem ke spodině tureckého sedla je již v obou případech shodná.

Transfenoidální operační přístup volíme i v případech výrazné supraselární porce adenomu, kdy se snažíme intrakavitární kyretáží bazální porce tumoru snížit tlak na chiasma či jiné supraselární struktury. V dalším období s pomocí likvorové pulzace dochází k postupnému kolapsu pouzdra a k jeho oddálení od zrakových nervů. To platí v situaci, kdy kapsula procesu není tuhá a zároveň není fixována fibroplastickou reakcí k supraselárním strukturám. Limitem radikality transsfenoidální resekce zůstává konzistence tumoru, což částečně potvrzují i výsledky našeho souboru, i když s použitím statistických metod není tato korelace na významné úrovni přesvědčivá. V zájmu bezpečnosti operačního výkonu nesmějí nástroje vyvíjet nepřiměřené násilí na citlivé okolní struktury sedla pro riziko jejich poranění [Masopust 2007]. V situacích fibrózních adenomů tužší konzistence užíváme mnoho let laserovou evaporizaci procesu s defokusovaným paprskem, což přispívá k vyšší radikalitě. O to se snažíme i použitím zvýšeného intrakraniálního tlaku v závěru operace, což docílujeme nastavením PEEPu (positive end-expiratory pressure) na anesteziologickém přístroji ve snaze natlačit reziduální supraselární porci do sedla [Česák 2006]. V posledních letech zvyšujeme úspěšnost operací i asistovanou endoskopickou technikou, která umožní přehlédnout a následně cíleně odstranit skryté reziduální porce tumoru. Velice slibnou technikou se perspektivně jeví kombinace endoskopického přístupu s peroperační MR umožňující grafické upřesnění aktuální situace v místě operace. Nimsy ve svém souboru 106 operovaných afunkčních adenomů hypofýzy zvýšil radikalitu díky dodatečné resekci po zhodnocení

intraoperační MR z 58 % na 82 %, obdobnou pozitivní zkušenost s intraoperační MR prezentoval Schwarz [Nimsky 2006, Schwarz 2006].

Transkraniální operační přístup rezervujeme pro adenomy, kde je supraselární porce tumoru výrazně asymetrická s malou pravděpodobností kolapsu rezidua do sedla. Dále jej indikujeme u reoperací v případech tužší konzistence adenomu.

Diagnostika grafického rezidua adenomu pomocí MR činí obtíže nejenom zkušeným neuroradiologům, ale i samotným neurochirurgům. Kontura adenomu je často i po radikálním výkonu v časném pooperačním období velmi podobná jako na předoperačním snímku. Liší se ve většině případů pouze signálovou nepravidelností v centru procesu v T1-vážených obrazech. Ta koresponduje s přítomností reziduální hemoragie, edematózních a exsudativních změn v pouzdru adenomu. Dále je tato signálová nehomogenita způsobena vloženým hemostatickým materiálem nebo fasciální plastikou používanou k uzavěru spodiny sedla. Normální komprimovaná hypofyzární tkáň není v této fázi prakticky diferencovatelná [Lanzien 1988, Rajaraman 1999]. Steiner a kolektiv ve své studii porovnávali předoperační a časné pooperační snímky MR po subfrontálních nebo transnazálních adenomektomiích a došli k závěru, že do 3 měsíců po operaci je nález v oblasti sedla jen velmi obtížně hodnotitelný [Steiner 1992]. Další autoři se shodovali v tom, že obraz na MR se dynamicky vyvíjí díky regresivním procesům v sedle ještě do 9 měsíců po operaci [Dina 1993] s jeho přibližnou stabilizací kolem 4. pooperačního měsíce [Rodriguez 1996]. U souboru našich pacientů s pooperačními zbytky jsme nastavili minimální interval kontrolní MR do 2 měsíců od operačního výkonu. Standardně jsme prováděli nativní T1-vážené obrazy v koronární projekci s objemovým odečtem rezidua pomocí bitmapové manuální segmentace neuranašního přístroje. Na grafickém hodnocení pooperační MR a kvantifikaci rezidua adenomu se spolupodílel neuroradiolog.

Procento recidiv literárně kolísá u AAH mezi 10-32%, přičemž chirurgická úspěšnost výkonu bývá dosažena až v 80-90% případů [Bradley 1994, Ciric 1983, Comtois 1991, Ebersold 1986, Lillehei 1998]. Termín „chirurgická úspěšnost“ přitom bývá v literárních pracech chápána různě. Vysoká procenta operačního úspěchu odráží nejenom nesourodost souborů AAH se začleněním procesů bez ohledu na velikost, ale ilustruje i literární nejednotu stran termínu „radikalita“, „rozsah resekce“, „objemová kontrola tumoru“, „bezpriznakový interval“ apod. (viz kapitola 2.3.2.). Na základě našich zkušeností se domníváme, že podstatnou roli v hodnocení chirurgické úspěšnosti sehrává i délka grafického sledování v pooperačním období. U našeho souboru jsme rozsah resekce hodnotili podle kontrolní MR

jako procentuální zmenšení původního objemu adenomu. Tento údaj jsme porovnávali se subjektivním zhodnocením radikality podle posouzení operátora v termínech „parciální“ nebo „radikální“ výkon.

U funkčních, hormonálně aktivních pituitárních nádorů, kolísá procento úspěšné chirurgické léčby mezi 30-60% [Laws 1979, Molitch 1997, Randall 1985]. Množství recidiv do značné míry závisí na radikalitě operačního výkonu, jeho počáteční velikostí a invazivitě procesu, tedy jeho schopnosti pronikat do sousedních kompartmentů tureckého sedla. Podle literárních pramenů zvyšuje paraselární propagace procesu množství recidiv, podle některých autorů až o 20% [Hsu 1993, Thapar 1996, Meij 2002].

V našem souboru nebyla invazivita rozhodujícím faktorem ovlivňujícím radikalitu. Převážně se totiž jednalo o infraselární propagaci tumoru s peroperační makroskopickou verifikací nebo histologickým průkazem durální infiltrace. Procento našich reziduálních nálezů na MR (nález rezidua ve 46 % případů) je díky přísnějšímu grafickému hodnocení vyšší než udávaná literární rozmezí. V užším souboru 29 nemocných, kteří splňovali kritéria studie, již byl rozsah resekce (zmenšení tumoru proti původnímu objemu v %) přes 76 % u prvních operací, u reoperací klesal jen minimálně na 72 %. Na tomto místě je třeba zmínit i fakt, že se jednalo ve velké míře o makroadenomy stadia C a D dle Hardyho (80 %), navíc v 66 % smíšené konzistence, u nichž je dosažení kompletní resekce obtížnější. Dalším důvodem je skutečnost, že jsme se snažili poctivě identifikovat i minimální reziduální objemy s velikostí kolem 100 mm³, což je podle našeho názoru díky výše popisovaným grafickým obtížnostem velmi přísný limit. Časem se totiž ukazuje a napovídají tomu i naše výsledky, že se tyto objemy v průběhu dalších let nezvětšují. Na základě tohoto poznatku se můžeme domnívat, že se zřejmě nejedná o reziduální hmotu adenomu, ale spíše o diagnostický artefakt přetrvávajících pooperačních změn. Obdobné vysvětlení máme i pro klesající objemový trend u 3 pooperačních reziduí v čase mezi první a druhou MR, kdy kapsula adenomu ještě nedosáhla svého objemového minima. Přikláníme se tak k literárnímu názoru, že definitivního ustálení grafického nálezu na MR bývá dosaženo vlivem regresivních změn až s odstupem 3-4 měsíců od operačního výkonu [Rajaraman 1999]. Situace v operovaném sedle je v tomto časovém odstupu již přehlednější a odečet rezidua přesnější. K odlišení zdravé hypofyzární tkáně od adenomu napomáhá podání kontrastní látky gadolinia, což ale nebylo proveditelné z různých důvodů u všech pacientů, proto jsme standardně při vykreslování objemu zbytků vynechávali zadní lem tloušťky 2mm přiléhající k dorsu sedla.

S přihlédnutím k výše zmíněným faktům se nám množství pooperačních reziduí našeho souboru zdá jako přiměřené a akceptovatelné. Zvláštní poznámku si zaslouží i určitý rozpor mezi subjektivním a objektivním zhodnocením radikality výkonu. Zdá se, že peroperační posouzení míry resekce neurochirurgem, opírající se o identifikaci dorsa sedla nebo diafragmatu, nevypovídá zcela přesně o realitě. Anatomie těchto struktur je totiž u makroadenomů v mnoha případech změněná (usurace dorza sedla, dilatace diafragmatu s otevřením hiatusu), navíc se do tohoto subjektivního vjemu promítá i optimismus neurochirurga.

Hlavním cílem naší studie bylo zkoumání závislosti růstu AAH na faktorech jako jsou věk, pohlaví, přítomnost cysty nebo invazivita adenomu. Sestavením růstových křivek adenomů jsme zjistili, že sledovaná rezidua rostou přibližně exponenciálně, a to bez ohledu na počáteční objem. Ve věkové kategorii nemocných do 60 let jsme přitom pozorovali různé rychlosti růstu, od pomalých až po strmé, agresivně rostoucí rezidua. Naopak u nemocných starších 61 let vykazovaly všechny růstové křivky pomalejší objemové nárůsty v čase. Podařilo se nám tak potvrdit věkovou závislost na rychlosti růstu AAH s přelomovým bodem kolem 60 let věku, což je v souladu s pozorováním i jiných autorů [Tanaka 2003]. Toto zjištění má jistě i praktický dopad v tom, že u starších věkových skupin se nemusíme obávat rychlejšího růstu rezidua s vědomím, že ponechaný zbytek adenomu již pacienta neohrozí. Výpočet TVDT, který předpokládá pozvolný exponenciální růst adenomu bez akcelerací (prokrvácení, tvorba cyst), svádí k určitým časovým předpovědím stran potenciálního ohrožení zrakových nervů. Budeme-li důvěřovat této matematické hypotéze, potom s určitou pravděpodobností dokážeme předpovědět dobu ohrožení zrakových nervů a přizpůsobíme tomu i frekvenci kontrolních vyšetření. Tato snaha o individualizaci pooperačního sledování nemocných přináší nepochybně i efekt ekonomický v redukci nadbytečných vyšetření MR.

Invazivita pituitárních adenomů patří v literatuře ke stále nedořešeným tématům. Předmětem diskuzí mezi odborníky zůstává jak její biologická podstata, tak i její možný přínos v odhalení rychleji rostoucích adenomů. Morfologické známky agresivního chování typické pro jiné humánní neoplazie, jako jsou nukleární pleomorfismus, cytologické atypie, vyšší buněčnost, nekróza nebo rychlá mitotická aktivita, nejsou u dobře diferencovaných pituitárních lézí vyjádřeny. Podobně problematická je i její identifikace spoléhající často jen na nepřímé známky invazivity procesu. To platí zvláště v situacích paraselární penetrace adenomu, kde je možnost histologického vyšetření limitovaná. U našeho souboru byla invazivita v souladu s literárním doporučením zjišťována na základě peroperačních nálezů,

grafických známek na MR nebo histologickým vyšetřením durální infiltrace buňkami adenomu [Thapar 1996, Scheithauer 1986, Selman 1986]. Penetrace tumoru do kavernózního sinu byla pouze předpokládána podle předoperační MR, kdy byl hodnocen přesah procesu přes obvod vnitřní karotidy. Řídili jsme se všeobecně uznávanou klasifikací podle Hardyho, i když se ve své původní podobě nezabývala izolovanou paraselární propagací. Ta byla zohledněna až o několik let později doplněním stadia E dalšími autory [Wilson 1984, Mohr 1990, Hardy 1991]. V detailech byla invazivita do kavernózního sinu potom dopracována Knospem, který ji rozčlenil na stupně 0 až 4 [Knosp 1993].

Při korelaci rychlosti růstu operačních reziduí AAH a invazivity adenomu nebyla shledána statisticky významná závislost. Jinými slovy, našich 22 invazivně se chovajících adenomů nerostlo rychleji než 7 adenomů, kde invaze do sousedních kompartmentů nebyla prokázána. K podobnému závěru došel Tanaka a kolektiv ve své studii porovnávající růstovou aktivitu 29 ohraničených reziduí a 11 invadujících ze souboru celkově odoperovaných 209 adenomů. Invazivita v tomto souboru nekorelovala s výši MIB-1 indexu, TVDT, ani s věkem [Tanaka 2003]. Naopak odlišného závěru se ve své studii dopracovala skupina kolem Thapara, kde dosahovala hodnota Ki-67 u neinvazivních procesů 1,34 %, u invazivních 4,66 % a 11,9 % u pituitárních karcinomů [Thapar 1996]. Hranice proliferačního indexu mezi invazivními a neinvazivními adenomy tak odpovídala v této práci 3 % při senzitivitě 73 % a specificitě 97 %. Soubor přitom srovnával proliferaci u 37 neinvazivních, 33 invazivních adenomů a 7 pituitárních karcinomů. V našem sledovaném souboru invazivita nesouvisela rovněž s věkem ani přítomností cyst na předoperačním MR. Statisticky významná korelace nebyla nalezena ani ve vztahu k proliferačnímu markeru Ki-67, tak jak se to naopak podařilo prokázat jiným autorům [Thapar 1996, Kitz 1991, Jaffrain-Rea 2002, Mastronardi 1999, Zhao 1999].

5. Imunohistochemická část – marker proliferace Ki-67

5.1. Metodika

Histologie; imunohistochemie (IHC)

Formalinem fixované parafinové řezy (6 mikrometrů) byly zpracovány obvyklou technikou a použity jak pro standardní tinkční histochemii (hematoxylin – eosin, Goldbergův trichrom, stříbření na retikulin podle Gömöriho), tak pro IHC detekci všech antigenů – hormonů i proliferačního markeru Ki-67. Pro obnažení epitopů byla uplatněna tepelná

aktivace (mikrovlnná, 700 W po dobu 15 min) v citrátovém pufru pH 6. Po IHC detekci byla buněčná jádra slabě dobarvena hematoxylinem (Weigert), zejména pro modré zobrazení negativních jader vůči imunoperoxidázové pozitivitě antigenu Ki-67.

Index proliferace:

Antigen Ki-67 byl zvolen jako relevantní proliferační marker, který je běžně užívaný v onkochirurgické praxi u jiných typů humánních neoplázií. Jedná se o nukleární protein preferenčně exprimovaný během aktivních fází buněčného cyklu (G1, S, G2 a M-fáze), v neaktivní, klidové (G0) fázi není přítomen. K jeho IHC detekci bylo použito monoklonální myší antihumánní protilátky (klon MIB-1, Code No. M7240, DAKO).

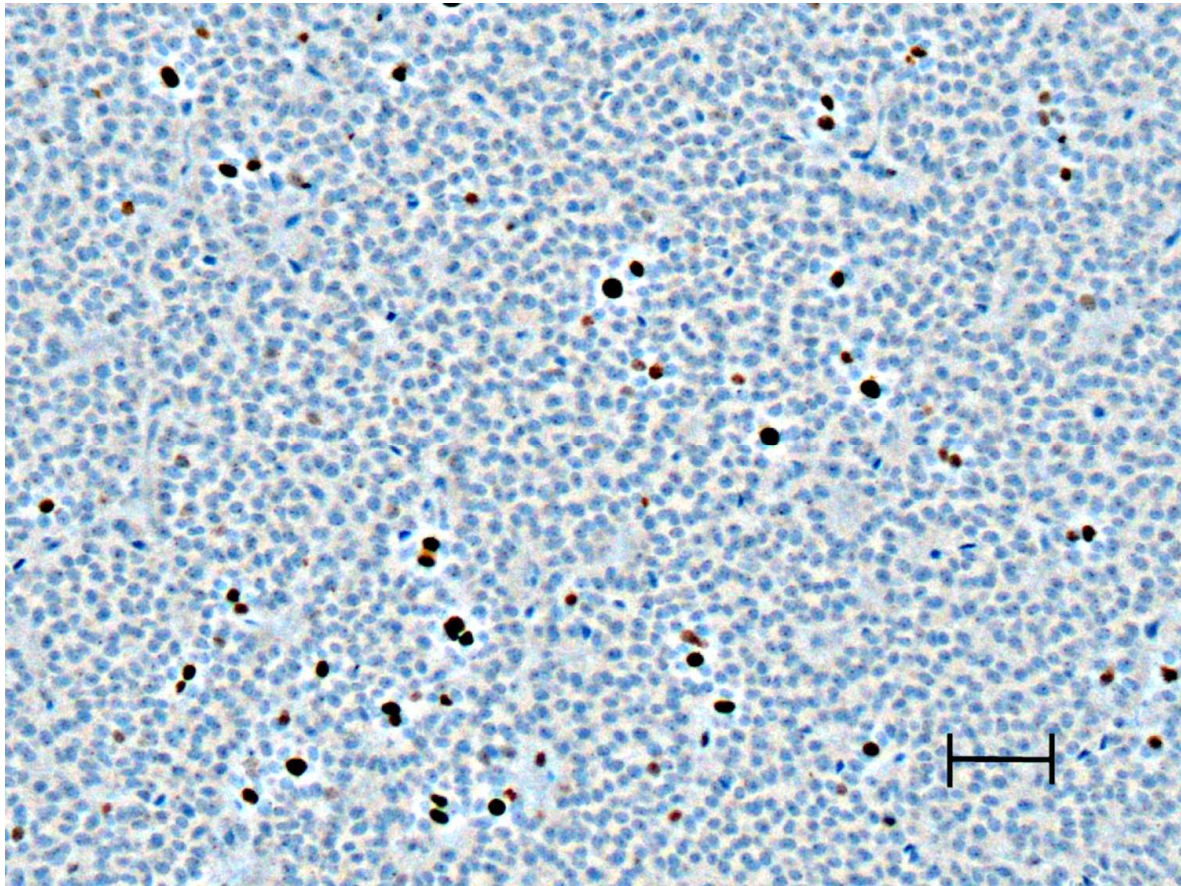
Primární protilátky pro IHC hypofyzárních hormonů:

Disponovali jsme monoklonálním typem protilátky, a to proti: ACTH (C-terminálně specifická, klon 02A3, DAKO), GH (MU 028-UC, BioGenex), následují od firmy IMMUNOTECH (uvedena katalog. čísla) proti: PRL (0371), beta-TSH (0370), beta-FSH (0373), beta-LH (0374), alfa-podjednotka (0375).

Vizualizační systém, vesměs imunoenzymový (případně imunofluorescenční), byl založený na sekundární protilátce značené biotinem a na streptavidinu konjugovaném s peroxidázou, případně s vhodným fluorochromem. Jako chromogen pro peroxidázu byl nejčastěji použit diaminobenzidin (System LSAB + HRP; Liquid DAB, Substrate – chromogen solution, DakoCytomation, kity kat. č. K0690 a K3468).

Mikroskopie:

Kromě standardního diagnostického odečítání a hodnocení preparátů, včetně subjektivního počítání indexu Ki-67 s přístupem na bázi „hot spots“ (viz níže), bylo použito automatického (softwarového) čítání pozitivních a negativních jader v následující technické sestavě: Mikroskop NIKON Eclipse 80i, Color Digital Kamera - Head DS-Fi1“ a software NIS Elements AR. Pro vhodný záběr snímaného pole kamerou (s ohledem na jeho zobrazení v počítači, rozměry a počet buněk na snímku) byl zvolen objektiv 20x. Proliferační index Ki-67 byl stanovován jako procentuální podíl imunopozitivních jader k celkovému počtu jader.



Obr.č.8: Ukázka preparátu s vysokou četností Ki-67 imunopozitivních (hnědočerných) jader. Negativní (modrá) jádra jsou dobarvena hematoxylinem. V typické architektonice adenomu je stínovitě patrná papilární úprava. Mikrofotografie též ukazuje proporce jejich rozměrů a počtu zobrazených buněk přibližně tak, jak bylo se snímkem pracováno při softwarovém čítání. Z každého adenomu bylo pořízeno kolem 10 takových snímků, aby jeho index Ki-67 mohl být počítán asi ze 20-30 tisíců buněk. Ryska odpovídá délce 50 mikrometrů.

Metodika zjišťování indexu Ki-67 :

Byly použity v zásadě 2 postupy, lišící se jak přístupem, tak technickým provedením:

1) Těžištěm informací z odečítaného preparátu může být v histopatologii jednak místo co možná nejvíce charakteristické nebo s nadbytkem určitého typického znaku v některých lokalitách (metoda „hot spots“ – HS). Tak zde bylo cíleně vybráno několik zorných polí s maximální četností pozitivních jader a tato místa byla vyhodnocena. Je přirozené, že takto získané procentuální hodnoty indexu Ki-67 z menšího počtu polí byly (ve srovnání s metodou ad 2) podstatně vyšší, a také více zatíženy možnými nepřesnostmi.

2) Použití softwarového čítání pozitivních a negativních jader dává možnost statisticky pracovat s vysokými hodnotami kumulativně načítaných objektů (softwarová metoda – SM). Tato metoda umožňuje rozsáhleji „skenovat“ adenom a využít tak optimálně vysokého počtu

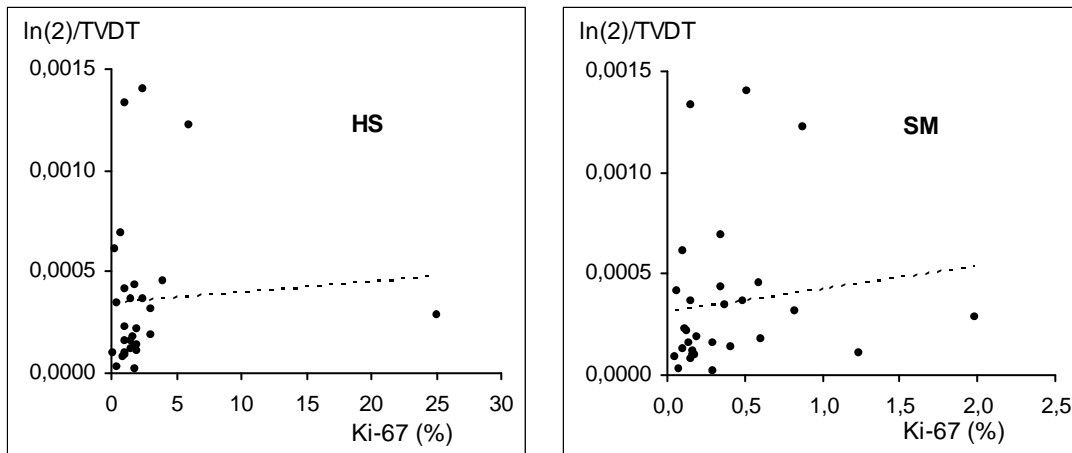
jeho zorných polí. Tedy postup je jaksí spravedlivější, protože odhlíží od četnosti v některých polích a vybírá je systematicky za sebou. O to více je však nutné důsledně respektovat předem stanovená pravidla korektního sběru dat. Musí být jisté, že v zorném poli převládá spolehlivě rozpoznatelná struktura adenomu. Je nutno systematicky vynechávat pole, v nichž je tkáň výrazně postižena prokrvácením nebo regresivními změnami. Předem je nutno orientačně prohlédnout a podle plošné velikosti preparátu odhadnout počet využitelných zorných polí. Podle tohoto aspektu potom rozhodnout, zda bude skenováno každé vyhovující zorné pole, nebo každé druhé, třetí, atd. s ohledem na úmysl mít pro statistiku alespoň zhruba odpovídající počty hodnocených jader u preparátů, pokud to je technicky možné. Pro tuto část naší studie jsme si stanovili numerické vodítko, že minimální počet všech načtených buněk by měl být alespoň kolem 20 tisíc (kromě velmi malých, ale jinak dobře hodnotitelných řezů), optimálně kolem 30 tisíc a neměl by podstatně překročit celkovou sumu 40 tisíc buněk.

5.2. Materiál

Histopatologická diagnóza a kvalitativní IHC charakteristika vzorků nádorové tkáně z operací byla pro jednotu v posuzování provedena vždy jedním a tímtéž zkušeným neuropatologem. Kromě klasické tinkční histochemie byla provedena s použitím IHC technik jednak detekce antigenu Ki-67, jednak všech adenohipofyzárních hormonů či jejich podjednotek (alfa + beta) u heterodimérních glykoproteinových hormonů. Zvláštní zřetel byl kladen na separátní IHC detekci specifických beta-podjednotek obou gonadotropinů (FSH a LH) a na jejich společnou alfa-podjednotku (sdílenou též diméřním TSH). Právě tyto hormonální entity se velmi často vyskytují v klinicky „němých“ adenomech. Pro jejich vzájemně defektní relace se buď netvoří finálně účinné kompletní hormony nebo dochází jen k jejich buněčné expresi v gonadotrofech, aniž by byly secernovány do krevního oběhu v klinicky významných kvantech. Hormonově specifickou charakteristiku zkoumaného souboru adenomů od 29 operovaných nemocných lze shrnout následujícím výčtem. Pouze 2 z nich (7 %) měly totální absenci jakéhokoliv hormonu a cytologicky patřily k adenomům z nulových buněk, místy s onkocytární přeměnou. Ve všech ostatních 27 případech (93 %) byly přítomny některé z výše uvedených podjednotek a tyto nádory lze tedy klasifikovat jako „klinicky němé gonadotrofinové adenomy“. Z nich ve 2 případech byla přítomna beta-FSH, 4 měly kombinaci 2krát „beta“ (tj. pro FSH i LH) a 21 bylo pozitivních dokonce pro všechny 3 podjednotky (obě „beta“ + „alfa“). Tento plurihormonální fenomén byl ještě ve 2 případech akcentován nálezem dalších 1 až 2 hormonů, a to TSH a TSH+PRL.

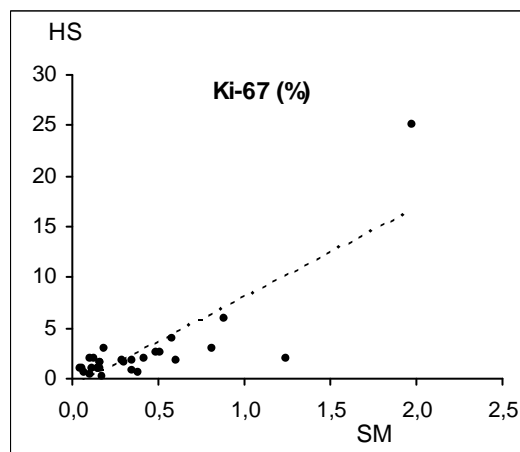
5.3. Výsledky

Vztah mezi rychlostí růstu a proliferačním indexem antigenu Ki-67 se v našem souboru 29 nemocných nepodařil na statisticky významné hladině prokázat, a to ani s použitím obou odečítacích technik z imunohistochemického preparátu ($p=0,75$ HS; $p=0,52$ SM - Pearsonův korelační koeficient).



Graf č.11: Korelace rychlosti růstu adenomu (inverzní hodnota TVDT) na proliferačním indexu Ki-67 (percentuální zastoupení imunopozitivních jader v preparátu), $n=29$ pacientů.
HS - metoda „hot spots“ vlevo (Pearsonův korelační koeficient = 0,063; $p=0,0747$)
SM - softwarová metoda vpravo (Pearsonův korelační koeficient = 0,124; $p=0,521$)

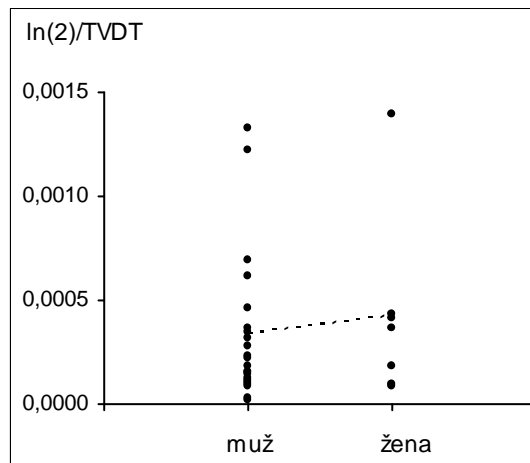
Obě metody výpočtu indexu pozitivních jader byly přitom shledány jako vzájemně korelující na statisticky významné úrovni ($p= 0,00022$).



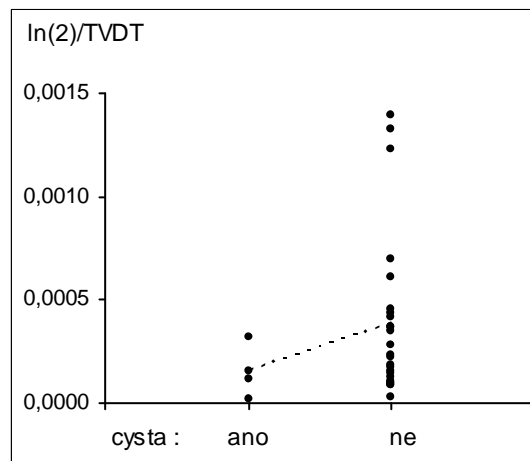
Graf č.12: Statistická korelace obou detekčních metod HS a SM ($p=0,00022$).

Medián proliferačního indexu Ki-67 získaného metodou „hot spots“ činil 1,5 % s izolovanou maximální hodnotou 25 % a minimální 0,1 %. Softwarová metoda odečtu postihující celý preparát dosáhla v mediánu hodnoty Ki-67 0,19 % s maximem 1,98 % a minimem 0,05 %.

Rychlost růstu reziduí AAH nejevila v naší studii závislost na pohlaví ($p=0,54$), na přítomnosti cysty na předoperační MR ($p=0,18$) a nezávisela ani na invazivitě procesu ($p=0,38$).



Graf č.13: Grafická závislost rychlosti růstu (inverzní hodnoty TVDT) na pohlaví ($p=0,54$).



Graf č.14: Vztah rychlosti růstu na přítomnosti cysty ($p=0,18$).

Ekramullah 1996, Losa 2000, Mizoue 1997, Nagashima 1986, Yonezawa 1997, Atkin 1997, Mastronardi 2002, Schreiber 1999, Vidal 2002]. Jako relevantní proliferační ukazatel se v mnoha studiích uplatňoval antigen Ki-67. Jeho četnější výskyt byl spojen s aktivnějším růstem či vyšším procentem recidiv adenomů [Nagashima 1986, Honegger 2003, Abe 1997, Kawamoto 1995, Turner 1999], případně reflektoval nižší proliferační potenci u STH adenomů předléčených somatostatinem [Čáp 2003]. Honneger se svými spoluautory na souboru 23 nemocných definoval přelomovou hranici Ki-67 na hodnotě 1,5%. Při vyšším procentu lze očekávat podle tohoto literárního zdroje rychlejší růstovou progresi adenomu bez ohledu na jeho případné invazivní chování [Honneger 2003]. V literatuře se však objevují i protichůdné výsledky, kde vyšší proliferační aktivita antigenu nebyla spojena s častějšími recidivami nebo akcelerovaným růstem [Losa 2000, Yonezawa 1997]. Literárně přetrvávající nejistota o spolehlivosti Ki-67 pramení i z určitých metodických nejednotností mezi jednotlivými pracovišti. Svoji roli zřejmě sehrává i fakt, že odebraného materiálu při operaci bývá málo, navíc je někdy znehodnocen krevními elementy nebo mechanickou manipulací. To se odráží v poměrně značné nehomogenitě hodnoceného preparátu, což je markantnější zvláště u počítačového odečtu z více polí. Řádově nižší hodnoty proliferačního indexu našeho souboru získaného softwarovou metodou proti technice „hot spots“ to podle našeho názoru dokládají. Nabízí se zároveň i otázka, zda různé porce adenomů mají stejnou proliferační potenci. Odpovědí nám může být názor Wolfsbergera, který se zabýval regionální diferencí Ki-67 ze 100 odběrů u 26 pacientů. Hodnota proliferačního indexu Ki-67 byla v různých partiích adenomu statisticky obdobná [Wolfsberger 2004]. Literární shody nebylo dosaženo ani v otázce rozdílu proliferačního indexu u funkčních a afunkčních adenomů. Někteří autoři podporují názor, že hormonálně aktivní adenomy, zvláště kortikotrofní, mají v průměru vyšší hodnotu Ki-67 [Thapar 1996, Mastronardi 1999, Lath 2001]. Ostatní se přiklánějí k závěru, že hormonální produkce nemá na míru proliferace podstatnější vliv [Zhao 1999, Abe 1997, Knosp 1989]. Naše výsledky tuto literární nejednotnost ilustrují a vedou k rozpakům nad jednoznačnou preferencí antigenu Ki-67 jako předpovědního ukazatele růstu AAH. Rychlejší růstové křivky našeho souboru nekorespondovaly s vyšší hodnotou Ki-67, a to ani v případě jeho výrazně nadnormální hodnoty u 77letého muže s relativně pomalým růstem. Zařazujeme se tak k pracovištím, kde se na statisticky signifikantní úrovni nepodařila závislost mezi rychlostí růstu AAH a proliferačním indexem zatím prokázat. Nicméně intuitivně přetrvává v našem rozhodování respekt k vyšším hodnotám proliferace, což se odráží i v individualizaci pooperačního sledování.

6. Souhrn výsledků

Cílem studie bylo poznání přirozených zákonitostí růstu AAH se snahou odhalit faktory mající vliv na jejich růstovou potenci. Součástí studie bylo zároveň zjistit, zda jaderný marker Ki-67 může být spolehlivým ukazatelem proliferace adenomů, jakož i mírou predikce růstové potence pooperačních reziduí, což by umožnilo vytipovat závažnější případy rychlého růstu při následné recidivě.

Soubor našich operovaných pacientů pro AAH od roku 2000-2007 čítal 105 pacientů. Stanovená kritéria souboru (pooperační reziduum detekované 2 grafickými kontrolami, bez adjuvantní terapie s imunohistochemickým odečtem proliferčního markeru) v současné době splnilo 29 nemocných (22 mužů, 7 žen). Průměrný věk souboru činil 62,9 roku. Ve velké míře se jednalo o afunkční makroadenomy s expresí gonadotrofinů (90%).

Cíle, které jsme si předem stanovili, byly splněny s následujícími výsledky. Radikalita bylo podle posouzení chirurga při operaci dosaženo u 12 nemocných, v 17 případech byl výkon parciální. Objektivně zjištěná radikalita na podkladě pooperačních grafických kontrol magnetickou rezonancí dosáhla v průměru 75% redukce původního objemu a klesala s počtem výkonů. Faktorem limitujícím subjektivní radikalitu resekce byla konzistence tumoru ($p=0,002$), objektivně stanovená radikalita nebyla ale konzistencí statisticky ovlivněna ($p=0,36$). Závislost pohlaví, přítomnosti cysty v adenomu nebo invazivního charakteru růstu na rozsahu resekce nebyla v našem souboru potvrzena. Růstové křivky konstruované na podkladě měřených objemů pooperačních reziduí (TVDT) prokázaly na statisticky významné úrovni závislost rychlosti růstu na věku. Zatímco u pacientů starších 61 let byly zmapovány pouze pozvolnější růstové křivky, u skupiny nemocných mladších 60 let byly zaznamenány kromě pomalého růstu i agresivnější objemové progrese. Závislost rychlosti růstu na věku byla statisticky signifikantní při použití inverzní hodnoty TVDT (TVDT_r $p=0,006$), logaritmu TVDT ($p=0,09$) i směrnice přímky proložené závislostí logaritmu objemu rezidua na čase od operace ($p=0,009$). Korelace rychlosti růstu a proliferčního indexu Ki-67 nebyla statisticky potvrzena. Stejně tak nebyla prokázána statisticky významná závislost rychlosti růstu na invazivitě adenomu, pohlaví a přítomnosti cysty na předoperační MR. Invazivita adenomu nebyla spojena s vyšším proliferčním indexem Ki-67. Na základě těchto informací jsme upravili naše pooperační sledování a stanovili indikační kritéria k pooperačnímu ozáření (viz níže).

7. Závěr

Afunkční adenomy hypofýzy představují díky rozmanitým biologickým vlastnostem nehomogenní skupinu onemocnění. Vlivem konzistence, většího počátečního objemu a díky invazivitě adenomů jsou pooperační zbytky zaznamenány poměrně často. Chirurgicky dosažitelná větší rezidua nebo recidivy adenomů indikujeme k reoperaci. Obtížně přístupné porce tumoru uložené v oblasti limitované chirurgické radikality dnes doporučujeme k radiochirurgii gamanožem.

Radiochirurgii pomocí LGN považujeme za významnou doplňkovou metodu u recidivujících nebo reziduálních AAH. U pacientů s pooperačními zbytky jsme gamaterapii indikovali u 19 nemocných (33%) na základě grafické progresse rezidua, zvláště v oblasti kavernózního sinu. Dále byla doporučována v situacích tužší konzistence adenomu, kdy by transkraniální reoperace znamenala pro interně limitovaného nemocného příliš velkou zátěž. Dalším indikačním momentem v našem rozhodování byla i individuální volba nemocného. Roli paušálního pooperačního ozáření gamanožem vnímáme nadále jako kontroverzní. Při zvažování této léčebné modalitě dáváme přednost grafickému sledování přirozeného vývoje rezidua, zvláště jedná-li se o staršího pacienta. Pomalejší růstová aktivita adenomů u starších nemocných, kterou jsme našimi výsledky prokázali, nám k tomu dává oprávnění. S radioterapií vyčkáváme na ustálení pooperačních změn na MR, což představuje interval kolem 3 měsíců od operace. Někdy ji odkládáme do doby spolehlivého zhodnocení jasné růstové progresse.

Při rozhodování jednotlivých případů postupujeme vždy individuálně, přičemž zvažujeme celý komplex informací. Na základě výsledků naší studie lze konstatovat, že rychlost růstu pooperačních reziduí AAH je ovlivněna věkem. Tento fakt přináší praktický příspěvek jak do léčebné strategie, tak i do pooperačního sledování. Kontrolní grafická vyšetření provádíme standardně po 3 a 12 měsících od operace. U mladších pacientů plánujeme druhou grafickou kontrolu s intervalem 6 - 9 měsíců.

Marker proliferace Ki-67, osvědčený v humánní onkologii, nelze na základě výsledků našeho aktuálního souboru s jistotou považovat za spolehlivý předpovědní růstový ukazatel. Vyšší hodnoty proliferačního indexu Ki-67 přes toto zjištění nepodceňujeme a nadále je zařazujeme do mozaiky v rozhodovacím procesu u našich nemocných. Hodnota indexu přesahující hodnotu 2,5% nás vede k obezřetnosti, kterou reflektujeme do algoritmu pooperačního sledování v podobě zkrácení grafických kontrol na 6 měsíců a s oftalmologickou kontrolou po 3 měsících. Individuálně potom upravujeme a doslova

„šijeme na míru“ časový harmonogram kontrol zvláště u těch nemocných, kde je vyšší hodnota proliferačního indexu Ki-67 doprovázena i abnormální růstovou progresí rezidua. Máme-li podezření na brzké ohrožení zrakových funkcí, indikujeme reoperaci raději dříve než se komprese optických nervů klinicky projeví. Výpočet předpokládaného dotyku adenomu se zrakovými nervy nám dává dostatečný časový prostor k rozhodnutí a naplánování reoperace.

Naše práce spočívající v komplexním a longitudinálním sledování pooperačních reziduí přináší díky propracované metodice u nás nové, zatím jinými autory nepublikované informace o růstových schopnostech afunkčních adenomů hypofýzy v korelaci s proliferačním antigenem Ki-67. Novým poznatkem je také vztah různých způsobů hodnocení proliferačního indexu Ki-67, který se mezi jednotlivými světovými pracovišti v metodickém přístupu liší. Na základě našich zkušeností se domníváme, že metoda měření pozitivních jader z histologicky typických ohnisek adenomu (hot spots) dává přece jenom relevantnější informaci o potenciálně agresivnějším růstu než náročná metoda průměrující celý preparát (softwarová metoda). Do budoucna jsou závěry naší studie jistě nadějným příslibem i přes skutečnost, že po statistickém zpracování aktuálního souboru nenašla v respektovaném proliferačním antigenu Ki-67 spolehlivého ukazatele rychlé růstové progresse.

Studie se svou podstatou zaměřila na složitou problematiku zatím řešenou intuitivně (intervaly MR kontrol). Přestože svými výsledky nevedla k průlomovému řešení, ozřejmila jasnou věkovou závislost na růstové potenci pooperačních reziduí. Pochopení přirozených zákonitostí růstu afunkčních adenomů hypofýzy přináší i důležitý poznatek u starších, dosud neoperovaných pacientů, jejichž nálezy pouze graficky sledujeme a vyčkáváme s operačním řešením.

8. Literatura

- Abe T, Sanno N, Osamura YR et al. Proliferative potential in pituitary adenomas: measurement by monoclonal antibody MIB-1. *Acta Neurochir* 1997; 139: 613-618.
- Abe T, Lüdecke DK, Saeger W. Clinically nonsecreting pituitary adenomas in childhood and adolescence. *Neurosurgery* 1998; 42: 744-751.
- Asa SL, Kovacs K. Clinically non-functioning human pituitary adenomas. *Can J Neurol Sci* 1992; 19: 228-235.
- Asa SL. *Tumors of the pituitary gland*. Washington: Armed forces Institute of Pathology 1998: 214.
- Atkin SL, Green LV, Hipkin LJ et al. A comparison of proliferation indices in human pituitary adenomas using formalin-fixed tissue and in vitro cell culture. *J Neurosurg* 1997; 87: 85-88.
- Beauchesne P, Trouillas J, Barral F et al. Gonadotrophic pituitary carcinoma: case report. *Neurosurgery* 1995; 37: 810-816.
- Benveniste R, King W, Wlasko J, Lee J, Delman B, Post K. Repeated transsphenoidal surgery to treat recurrent or residual pituitary adenoma. *J Neurosurg* 2005; 102: 1004-1012.
- Black PM, Hsu DW, Klibanski A et al. Hormone production in clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1987; 66: 244-250.
- Brada M, Rajan B, Traish D et al. The long-term efficacy of conservative surgery and radiotherapy in the control of pituitary adenomas. *Clin Endocrinol* 1993; 38: 571-578.
- Bradley KM, Adams CB, Potter CP, Wheeler DW, Anslow PJ, Burke CW. An audit of selected patients with non-functioning pituitary adenoma treated by transsphenoidal surgery without irradiation. *Clin Endocrinol* 1994; 41: 655-659.
- Breen P, Flickinger JC, Kondiolka D, Martinez AJ. Radiotherapy for non-functional pituitary adenoma: Analysis of long-term tumor control. *J Neurosurg* 1998; 89: 933-938.
- Buckley N, Bates AS, Broome JC et al. P53 protein accumulates in Cushing's adenomas and invasive non-functional adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1513-1516.
- Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS. *Surgical Pathology of the Nervous System and Its Coverings*. Fourth ed. New York, Edinburgh, London, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2002; p 437-497.

- Burrow GN, Wortzman N, Rewcastle NB et al. Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. *New England Journal of Medicine* 1981; 304: 156-158.
- Carboni P Jr, Detta A, Hitchcock ER et al. Pituitary adenoma proliferative indices and risk of recurrence. *Br J Neurosurgery* 1992; 6: 33-40.
- Cavallo LM, Messina A, Gardner P et al. Extended endoscopic endonasal approach to the pterygopalatine fossa: anatomical study and clinical considerations. *Neurosurg Focus* 2005; 19(1): E5.
- Cerman J, Němeček S. Molekulární a genetické aspekty tumorigeneze nervového systému a hypofýzy. In: Náhlovský et al. *Neurochirurgie*. Galén, 2006: 82-103.
- Ciric I, Mikhael M, Stafford T et al. Transsphenoidal microsurgery of pituitary macroadenomas with long-term follow-up results. *J Neurosurg* 1983; 59: 395-401.
- Ciric I, Ragin A, Baumgartner C, Pierce D. Complications of transsphenoidal surgery: results of a national survey, review of the literature and personal experience. *Neurosurg* 1997; 40: 225-237.
- Comtois R, Beauregard H, Somma M et al. The clinical and endocrine outcome of transsphenoidal microsurgery of nonsecreting pituitary adenomas. *Cancer* 1991; 68: 860-866.
- Comtois R, Beauregard H, Somma M et al. Treatment of the non-functioning hypophyseal adenoma. *Union Med Can* 1993; 122: 482-487.
- Copelli SB, Coll MAL, Bruno OD. Absence of mutations in the p53 tumor suppressor gene in non-invasive Cushing adenomas. *Medicina (B aires)* 1999; 59: 459-462.
- Cushing H. Intracranial tumors: Notes upon a series of two thousand verified cases with surgical mortality percentages pertaining thereti. *Arch Neurol Psychiat* 1932; 27: 1273.
- Čáp J, Cerman J, Němeček S, Mareková M, Hána V, Fryšák Z. The influence of treatment with somatostatin analogues on morphology, proliferative and apoptotic activity in GH-secreting pituitary adenomas. *J Clin Neurosci* 2003; 10: 444-448.
- Česák T, Náhlovský J, Látr I, Čáp J, Ryška P. Nádorová onemocnění hypofýzy. In: Náhlovský et al. *Neurochirurgie*. Galén, 2006: 155-176.
- de Divitis E, Cappabianca P. Endoscopic endonasal transsphenoidal surgery. In: Pickard ED et al. (eds). *Advances and Technical Standards in Neurosurgery*. 27th ed. New York: Springer –Verlag, 2002; 137-177.

- de Divitis E, Cappabianca P, Cavallo LM, Esposito F, de Divitis O, Messina A. Extended endoscopic transsphenoidal approach for extrasellar craniopharyngiomas. *Neurosurgery* 2007; 61(5 Suppl 2): 219-227.
- Decker RE, Epstein RA, Carras R, Rosenthal AD. Transsphenoidal microsurgery for pituitary tumors: Experience with 45 cases. *The Mount Sinai Journal of Medicine* 1976; 43: 565-577.
- DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C.(Eds.): *Tumours of the Pituitary Gland*. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs, Lyon: IARC Press, 2004; 10-47.
- DiChiro G, Nelson KB. The volume of the sella turcica. *Am J Roentgenol* 1962; 87: 989-1008.
- Dina TS, Feaster SH, Laws ER, Davis DO. MR of the pituitary gland postsurgery: Serial MR studies following transsphenoidal resection. *AJNR* 1993; 14: 763-769.
- Dusick JR, Esposito F, Mattozo CA, Chaloner C, McArthur DL, Kelly DF. Endonasal transsphenoidal surgery: the patient's perspective-survey results from 259 patients. *Surg Neurol* 2006; 65(4): 332-341.
- Dyer EH, Civit T, Viso T A, Delalande O, Derome P. Transsphenoidal surgery for pituitary adenomas in children. *Neurosurgery* 1994; 34: 207-212.
- Ebersold MJ, Quast LM, Laws ER Jr et al. Long-term results in transsphenoidal removal of nonfunctioning pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1986; 64: 713-719.
- Ekramullah SM, Saitoh Y, Arita N et al. The correlation of Ki-67 staining indices with tumour doubling times in regrowing non-functioning pituitary adenomas. *Acta Neurochir* 1996; 138: 1449-1455.
- Ezzat S. The role of hormones, growth factors and their receptors in pituitary tumorigenesis. *Brain Pathol* 2001; 11: 356-370.
- Farrell WE, Clayton RN. Epigenetic chase in pituitary tumorigenesis. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 323-330.
- Feigl GC, Bonelli CM, Berghold A, Mokry M. Effects of gamma knife radiosurgery of pituitary adenomas on pituitary function. *J Neurosurg* 2002; 97(Suppl.5): 415-421.
- Fortes FS, Carrau RL, Snyderman CH et al. Transpterygoid transposition of a temporoparietal fascia flap: a new method for skull base reconstruction after endoscopic expanded endonasal approaches. *Laryngoscope* 2007; 117(6): 970-976.

- Fusek I. Historické poznámky. In: Fusek I. Chirurgické léčení nádorů tureckého sedla transsfenoidálním přístupem. Avicenum, 1986: 13.
- Hardy J, Verzina JL. Transsphenoidal neurosurgery of intracranial neoplasm. In: Thompson RA, Green JR (eds) *Advances in neurology*. New York: Raven Press, 1976: 261-274.
- Hardy J. Transsphenoidal hypophysectomy. *J Neurosurg* 1977; 34: 582-594.
- Hardy J. *Atlas of Transsphenoidal Microsurgery in Pituitary Tumors*. New York: Igaku-Shoin Medical Publishers 1991; p 3.
- 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(4): 674-679.
- Horvath E, Kovacs K. Ultrastructural diagnosis of human pituitary adenomas. *Microsc Res Tech* 1992; 20: 107-135.
- Horvath E, Scheithauer BW, Kovacs K et al. Regional neuropathology: hypothalamus and pituitary. In Graham DI, Lantos PL (eds.) *Greenfield's Neuropathology*. 6th ed. London: Arnold, 1997; 1007-1094.
- Hsu DW, Hakim F, Miller BM et al. Significance of proliferating cell nuclear antigen index in predicting pituitary adenoma recurrence. *J Neurosurg* 1993; 78: 753-761.
- Jaffrain-Rea ML, Di Stefano D, Minniti G et al. 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(2): 103-113.
- Jakobson KE, Petruson B, Lindblom B. Dynamics of visual improvement following chiasmal decompression. Quantitative pre- and postoperative observation. *Acta Ophthalmol Scand* 2002; 80(5): 512- 516.
- Jefferson G. Extrasellar extensions of pituitary adenomas. *Proc Roy Soc Med* 1939/1940; 33: 433-458.
- Jordan S, Lidhar K, Korbonits M, Lowe DG, Grossman AB. Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: R1-R6.
- Kamyrio T, Lopes MBS, Kassel NF, Steiner L, Lee KS. Radiosurgery induced microvascular alterations precede necrosis of the brain neuropil. *Neurosurgery* 2001; 49: 409-415.
- Kaufman B, Chamberlin WB Jr. The ubiquitous "empty" sella turcica. *Acta Radiol (Diagn)* 1972; 13: 413-425.

- Kawamoto H, Uozumi T, Kawamoto K et al. Analysis of the growth rate and cavernous sinus invasion of pituitary adenomas. *Acta Neurochir* 1995; 136: 37-43.
- Kitz K, Knosp E, Koos WT, Korn A. Proliferation in pituitary adenomas: Measurement by MAb Ki-67. *Acta Neurochir* 1991; 53: 60-64.
- Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61: 215-225.
- Klencki M, Kurnatowska I, Slowinska-Klencka D, Lewinski A, Pawlikowski M. Correlation between PCNA expression and AgNOR dots in pituitary adenomas. *Endocr Pathol* 2001; 12: 163-169.
- Knosp E, Kitz K, Pernetzky A. Proliferation activity in pituitary adenomas: measurement by monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1989; 25: 927-930.
- Knosp E, Steiner E, Kitz K, Matula CH. Pituitary adenomas with invasion of cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery* 1993; 33: 610-618.
- Kondziolka D, Nathoo N, Flickinger JC, Niranjan A, Maitz AH, Lunsford LD. Long-term results after radiosurgery for benign intracranial tumors. *Neurosurgery* 2003; 53: 815-822.
- Kontogeorgos G, Sambaziotis D, Piaditis G et al. Apoptosis in human pituitary adenomas: a morphologic and in situ end-labeling study. *Mod Pathol* 1997; 10: 921-926.
- Kovacs K, Ryan N, Horvath E et al. Pituitary adenomas in old age. *Journal of Gerontology* 1980; 35: 16-22.
- Kovacs K, Horvath E, Vidal S. Classification of pituitary adenomas. *J Neurooncol* 2001; 54:121-127.
- Landolt AM, Lomax N. Gamma knife radiosurgery for prolactinomas. *J Neurosurg* 2000; 93 (Suppl 3): 14-18.
- Lanzien CF, Larkins M, Mancall A et al. Cranial postoperative site: MR imaging appearance. *AJNR* 1988; 8: 27-34.
- Lath R, Chatko G, Chandy MJ. Determination of Ki-67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody. *Neurol India* 2001; 49: 144-147.
- Laws ER Jr., Piegrass DG, Randall RV, Abboud CHF. Neurosurgical management of acromegaly. Results in 82 patients treated between 1972 and 1977. *J Neurosurg* 1979; 50: 454-461.

- Laws ER Jr., Scheithauer BW, Carpenter S et al. The pathogenesis of acromegaly: clinical and immunohistochemical analysis in 75 patients. *J Neurosurg* 1985; 63: 35-38.
- Levy A, Lightman S. Molecular defects in the pathogenesis of pituitary tumours. *Front Neuroendocrinol* 2003; 24: 94-127.
- Lillehei KO, Kirschman DL, Kleinschmidt-DeMasters BK et al. Reassessment of the role of radiation therapy in the treatment of endocrine-inactive pituitary macroadenomas. *Neurosurgery* 1998; 432-439.
- Liu JK, Couldwell W. Pituitary apoplexy: Diagnosis and management. *Contemp Neurosurg* 2003; 25(12): 1-5.
- Losa M, Franzin A, Mangili F et al. Proliferating index of nonfunctioning pituitary adenomas: correlations with clinical characteristics and long-term follow-up results. *Neurosurgery* 2000; 47: 1313-1319.
- Losa M, Valle M, Mortini P et al. Gamma knife surgery for treatment of residual nonfunctioning pituitary adenomas after surgical debulking. *J Neurosurg* 2004; 100: 438-444.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 2007; 114: 97-109.
- Masopust V, Netuka D, Hána V, Marek J, Beneš V. Chirurgická léčba hormonálně aktivních adenomů hypofýzy. *Čes Slov Neurol N* 2007; 70/103(4): 402-406.
- Masopust V, Netuka D, Beneš V. Endonazální endoskopická transsfenoidální resekce selárních lézí. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(6): 704-710.
- Mastronardi L, Guiducci A, Spera C et al. Ki-67 labelling index and invasiveness among anterior pituitary adenomas: analysis of 103 cases using MIB-1 monoclonal antibody. *J Clin Pathol* 1999; 52(2): 107-111.
- Mastronardi L, Guiducci A, Puzilli F, Maira G. Anterior pituitary adenomas in patient aged more than 65 years: analysis of growth fraction (using MIB 1 monoclonal antibody) and of clinical features in comparison to younger patients. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2002; 104: 44-48.
- Meij BP, Lopez MB, Ellegala DB, Alden TD, Laws ER Jr. The long-term significance of microscopic dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transphenoidal surgery. *J Neurosurg* 2002; 96: 195-208.

- Miky Y, Matsuo M, Nishizawa S et al. Pituitary adenomas and normal pituitary glands: gadopentate patterns on gadopentate - enhanced MR imaging. *Radiology* 1991; 177: 35-38.
- Mindermann T, Wilson CB. Pediatric pituitary adenomas. *Neurosurgery* 1995; 36: 259-269.
- Mizoue T, Kawamoto H, Arita K et al. MIB 1 immunopositivity is associated with rapid regrowth of pituitary adenomas. *Acta Neurochir* 1997; 139: 426-432.
- Mohr G, Hardy J, Comtois R, Beauregard H. Surgical management of giant pituitary adenomas. *Can J Neurol* 1990; 17: 62-66.
- Molitch ME, Thormer MO, Wilson C. Management of prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 996-1000.
- Morange-Ramos I, Régis J, Dufour H et al. Gamma knife surgery for secreting pituitary adenomas. *Acta Neurochir (Wien)* 1998; 140: 437-443.
- Muller W, Saeger W, Welhausen 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.
- Nagashima T, Murovic JA, Hoshino T et al. The proliferative potential of human pituitary tumors in situ. *J Neurosurg* 1986; 64: 588-593.
- Náhlovský J, Česák T, Látr I, Čáp J, Žižka J, Krajina A. Komplikace transsfenoidálních operací u našich nemocných - příčiny a řešení. *Čes Slov Neurol N* 2004; 67/100: 112-119.
- Nakabayashi H, Sunada I, Hara M. Immunohistochemical analyses of cell cycle-related proteins, apoptosis and proliferation in pituitary adenomas. *J Histochem Cytochem* 2001; 49: 1193-1194.
- Němeček S, Němečková J, Cerman J. Patologie nádorů nervového systému a hypofýzy. In: Náhlovský et al. *Neurochirurgie*. Galén, 2006: 65-82.
- Nimsky C, von Keller B, Ganslandt O, Fahlbusch R. Intraoperative high-field magnetic resonance imaging in transsphenoidal surgery of hormonally inactive pituitary macroadenomas. *Neurosurgery* 2006; 59(1): 105-114.
- Nistor R, Fahlbusch R, Buchfelder M, Huk W. Magnetic resonance imaging of parasellar developed pituitary adenomas: new consequences for pituitary surgery. In Samii M: *Surgery of the Sellar Region and Parasellar Sinuses*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1991; 199-204.

- Nistor R. Pituitary tumours. In Palmer JD. (ed.) Manual of neurosurgery. New York: Churchill Livingstone, 1996: 264-272.
- Oldfield EH, Vortmeyer AO. Development of a histological pseudocapsule and its use as a surgical capsule in the excision of pituitary tumors. *J Neurosurg* 2006; 104: 7-19.
- Pernicone PJ, Scheithauer BW, Sebo TJ et al. Pituitary carcinoma: A clinopathologic study of 15 cases. *Cancer* 1997; 79: 804-812.
- Petrovich Z, Yu C, Giannotta SL, Zee CS, Apuzzo ML. Gamma knife radiosurgery for pituitary adenoma. Early results. *Neurosurgery* 2003; 53: 52-61.
- Pia HV, Obrador S, Martin JG. Association of brain tumours and arterial intracranial aneurysma. *Acta Neurochir (Wien)* 1972; 27: 189-204.
- Pollock BE, Nippoldt TB, Stafford SL, Foote RL, Abboud CF. Results of stereotactic radiosurgery for patients with hormone producing pituitary adenomas: Factors associated with endocrine normalization. *J Neurosurg* 2002; 97: 525-530.
- Pollock BE, Carpenter PC. Stereotactic radiosurgery as an alternative to fractionated radiotherapy for patients with recurrent or residual nonfunctioning pituitary adenoma. *Neurosurgery* 2003; 53: 1086-1094.
- Rajaraman V, Schulder M. Postoperative MRI appearance after transsphenoidal pituitary tumor resection. *Surg Neurol* 1999; 52: 592-599.
- Ram Z, Nieman LK, Cutler GB, Chrousos GP, Dopman JL, Oldfield EH. Early repeat surgery for persistent Cushing's disease. *J Neurosurg* 1994; 80: 37-45.
- Randall RV, Scheithauer BW, Laws ER Jr et al. Pituitary adenomas associated with hyperprolactinemia: a clinical and immunohistochemical study of 97 patients operated on transsphenoidally. *Mayo Clin Proc* 1985; 60: 753-762.
- Raymond J, Hardy J, Czepko R, Roy D. Arterial injuries in transsphenoidal surgery for pituitary adenoma: The role of angiogram and endovascular treatment. *Am J Neuroradiol* 1997; 18: 655-665.
- Rhoton AL Jr., Hardy DG, Chambers SM. Microsurgical anatomy and dissection of the sphenoid bone, cavernous sinus and sellar region. *Surg Neurol* 1979; 12: 63-104.
- Riedel M, Noldus J, Saeger W et al. Sellar lesions associated with isolated prolactinemia: morphological, immunocytochemical, hormonal and clinical results. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1986; 113: 196-203.

- Rodriguez O, Mateos B, De la Pedraja R et al. Postoperative follow-up of pituitary adenomas after transsphenoidal resection: MRI and clinical correlation. *Neuroradiology* 1996; 38: 747-754.
- Rush S, Copper PR. Symptom resolution, tumor control and side effects following radiotherapy for pituitary macroadenomas. *Int J Radiat Biol Phys* 1997; 37: 1031-1034.
- Saeger W, Ludecke DK, Bergmann M et al. Pituitary carcinoma: definition, incidence, characteristics and case reports. *Pathol Res Pract* 1999; 195: 296, abstr 78.
- Sameš M, Vachata P, Saur K, Budíková M. Přímý transnazální miniinvazivní přístup pro mikrochirurgickou resekci adenomů hypofýzy. *Čes Slov Neurol N* 2005; 82-9: 452-455.
- Scotti G, Yu-C-Y, Dillion VP et al. MR imaging of cavernous sinus involvement by pituitary adenomas. *AJR* 1988; 151: 799-806.
- Selman WR, Laws ER Jr, Scheithauer BW, Carpenter SM. The occurrence of dural invasion in pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1986; 64: 402-407.
- Sheehan JM, Vance ML, Sheehan JP, Ellegala JP, Laws ER Jr. Radiosurgery for Cushing's disease after failed transsphenoidal surgery. *J Neurosurg* 2000; 93: 738-742.
- Sheehan JP, Kondziolka D, Flickinger JC, Lunsford LD. Radiosurgery for residual recurrent nonfunctioning pituitary adenoma. *J Neurosurg* 2002; 97(Suppl 5): 408-414.
- Shou XF, Li SQ, Wang YF, Zhao Y, Jia PF, Zhou LF. Treatment of pituitary adenomas with a transsphenoidal approach. *Neurosurg* 2005; 56: 249-256.
- Scheithauer BW, Kovacs KT, Laws ER Jr, Randall RW. Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J Neurosurg* 1986; 65: 733-744.
- Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Lloyd RV. The adenohipophysis. In: Solcia E, Kloppell G, Sobin LH. WHO 2000 Histologic typing of Endocrine Tumours. New York: Springer-Verlag, 2000: 15-29.
- Schreiber S, Saeger W, Lüdecke DK. Proliferation markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas. *Pituitary* 1999; 1: 213-220.
- Schwarz TH, Stieg PE, Anand VK. Endoscopic transsphenoidal pituitary surgery with intraoperative magnetic resonance imaging. *Neurosurgery* 2006; 58 (1Suppl): ONS 44-51.
- Snow RB, Johnson CE, Morgello S, Lavyne MH, Patterson RH Jr. Is magnetic resonance imaging useful in guiding the operative approach to large pituitary tumors? *Neurosurgery* 1990; 26: 801-803.

- Snyderman CH, Kassam AB, Carrau R, Mintz A. Endoscopic Reconstruction of Cranial Base Defects following Endonasal Skull Base Surgery. *Skull Base* 2007; 17(1): 73-78.
- Steiner E, Knosp E, Herold CJ et al. Pituitary adenomas: findings of postoperative MR imaging. *Radiology* 1992; 185: 521-527.
- Suhardja A, Kovacs K, Rutka J. Genetic basis of pituitary adenoma invasiveness: A review. *J of Neurooncol* 2001; 52: 195-204.
- Šercl M. Nádory mozku, mozečku, očnic, baze lební a spánkové kosti. In: Černoch Z. a spoluautoři. *Neuroradiologie. Nucleus*, 2000: 340-344.
- Tanaka Y, Hongo K, Tada T, Sakai K, Kakizawa Y, Kobayashi S. Growth pattern and rate in residual nonfunctioning pituitary adenomas: correlation among tumor volume doubling time, patient age, and MIB-1 index. *J Neurosurg* 2003; 98: 359-365.
- Thapar K, Kovacs K, Horvath E, Asa SL. Classification and Pathology of Pituitary Tumors. In: Wilkins RH, Rengachary SS. *Neurosurgery (Sec.edition, Vol.1)*. New York: McGraw-Hill, 1996: 1273 - 1289.
- Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW et al. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: An analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996; 38: 99-107.
- Tsang RW, Brierley JD, Panzarella T, Gospodarowicz MK, Sutcliffe SB, Simpson WJ. Radiation therapy for pituitary adenoma: Treatment outcome and prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 557-565.
- Turner HE, Wass JAH. Are markers of proliferation valuable in the histological assessment of the pituitary tumors? *Pituitary* 1999; 1: 147-151.
- Turner HE, Nagy Z, Sullivan N, Esiri MM, Wass JAH. Expression analysis of cyclins in pituitary adenomas and pituitary gland. *Clin Endocrinol* 2000; 53: 337-344.
- Vidal S, Kovacs K, Horvath E, Scheithauer BW, Kuroki T, Lloyd RV. Microvessel density in pituitary adenomas and carcinomas. *Virchows Arch* 2001; 438: 595-602.
- Vidal S, Kovacs K, Horvath E et al. Topoisomerase II alfa expression in pituitary adenomas and carcinomas: relationship to tumor behavior. *Mod Pathol* 2002; 15(11): 1205-1212.
- Vladyka V, Liščák R, Šimonová G et al. Radiochirurgické léčení adenomů hypofýzy gama nožem: výsledky u souboru 163 nemocných získané v intervalu 5 let. *Čas.Lék.čes.*2000; 24: 757-766.

- Vladyka V, Liscak R, Novotny J Jr., Marek J, Jezkova J. Radiation tolerance of functioning pituitary tissue in gamma knife surgery for pituitary adenomas. *Neurosurgery* 2003; 52: 309-317.
- Wakai S, Fukushima T, Teramoto A et al. Pituitary apoplexy: Its incidence and clinical significance. *J Neurosurg* 1981; 55: 187-193.
- Wilczak W, Saeger W, Knappe UJ, Hagel C, Ludecke DK. Urokinase, urokinase receptor, tissue plasminogen activator and matrix metalloproteinase in pituitary adenomas. *Endocrin Pathol* 2001; 12: 253.
- Wilson CB. A decade of pituitary microsurgery. *J Neurosurg* 1984; 61: 814-833.
- Wilson CB. Surgical management of pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2381-2385.
- Wolfsberger S, Kitz K, Wunderer J et al. Multiregional sampling reveals a homogenous distribution of Ki-67 proliferation rate in pituitary adenomas. *Acta Neurochir* 2004; 146: 1323-1328.
- Wowra B, Stummer W. Efficacy of gamma knife radiosurgery for nonfunctioning pituitary adenomas: A quantitative follow up with magnetic resonance imaging-based volumetric analysis. *J Neurosurg* 2002; 97(Suppl 5): 429-432.
- Yamada S, Vidal S, Sano T, Horvath E, Kovacs K. Effect of gamma knife radiosurgery on a pituitary gonadotroph adenoma: a histologic, immunohistochemical and electron microscopic study. *Pituitary* 2003; 6: 53-58.
- Yonezawa K, Tamaki N, Kokunai T. Clinical features and growth fractions of pituitary adenomas. *Surg Neurol* 1997; 48: 494-500.
- Zhao D, Tomono Y, Nose T. Expression of P27kip1 and Ki-67 in pituitary adenomas: an investigation of marker of adenoma invasiveness. *Acta Neurochir* 1999; 141(2): 187-192.