

ARTICOL DE CERCETARE

Profilul hormonal al adenoamelor hipofizare în Republica Moldova

Eugen Melnic^{1*}

¹*Catedra de morfopatologie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Autor corespondent:

Eugen Melnic, dr. șt. med., conf. univ.

Catedra de morfopatologie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

str. Nicolae Testemițanu, 27, Chișinău, Republica Moldova, MD-2025

e-mail: eugen.melnic@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Structura și variabilitatea adenoamelor hipofizare nu a fost cercetată, în special, în tumori cu asocieri hormonale. Majoritatea cazurilor cu profil hormonal rar nu au fost caracterizate până în prezent din punct de vedere clinicopatologic și, acest fapt, reprezintă scopul continuării cercetărilor în domeniul patologiei hipofizare, particularizat pentru Republica Moldova.

Ipoteza de cercetare

Populația Republicii Moldova ar putea să posede asocieri hormonale și pattern-uri de creștere ale adenoamelor hipofizare diferite de cele raportate în literatura de specialitate.

Noutatea adusă literaturii din domeniu

Rata cazurilor de adenoame hipofizare mixte cu asocieri rare a fost superioară mediei întâlnite în literatura de specialitate. Acest aspect susține prezența unor factori etiopatogenici particulari zonei de unde provin adenoamele hipofizare.

Rezumat

Introducere. Această lucrare evaluează aspectul histochemic și modificările moleculare ale adenoamelor pituitare umane. Evidențiază grupuri individuale de tumori cu aspecte generale, specifice și moleculare. Rezultatele acestui studiu sunt utile nu doar pentru medicii practicieni, care doresc să stabilească un diagnostic cât mai clar, dar de asemenea și pentru cercetători, care au drept scop să soluționeze probleme de bază în adenoamele hipofizare cu ajutorul imunohistochemiei și biologiei moleculare.

Material și metode. Pentru studiul de față, am investigat 96 de cazuri (10 hipofize normale, obținute în timpul necropsiilor și 86 de cazuri diagnosticate cu adenom hipofizar, aflate

RESEARCH ARTICLE

Hormonal profile of pituitary adenomas in Republic of Moldova

Eugen Melnic^{1*}

¹*Chair of morphopathology, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Corresponding author:

Eugen Melnic, PhD, assoc. prof.

Chair of morphopathology

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

27, Nicolae Testemitanu str., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2025

e-mail: eugen.melnic@usmf.md

What is not known yet about the topic

Pituitary adenomas structure and variability has not been yet investigated, particularly the tumors with hormonal combination. Most cases with rare hormonal profile have not been characterized so far in clinical-pathological terms and this is the purpose of continuing research on pituitary pathology custom for the Republic of Moldova.

Research hypothesis

Moldova's population might possess hormonal association and growth patterns of pituitary adenomas which differ from those reported in the literature.

Article's added novelty on this scientific topic

The ratio of the mixed pituitary adenomas cases with rare association was higher than the average encountered in literature. This feature supports the presence of special ethiopathogenic factors that determine pituitary adenomas' origin.

Abstract

Introduction. This work assesses the histochemical appearance and molecular changes of the human pituitary adenomas. It highlights individual groups of tumors with general, specific and molecular features. The results of this research are useful not only for physicians that wish to establish a perfect diagnosis, but also for researchers who aim to solve basic problems in pituitary adenomas using immunohistochemistry and molecular biology.

Material and methods. For this study we investigated 96 cases (10 normal pituitary glands obtained during necropsies and 86 cases diagnosed with pituitary adenoma, in various stages of clinical development). These, in turn, were evaluated

în diferite stadii de evoluție clinică). Acestea, la rândul lor, au fost evaluate prin metoda de rutină, colorație cu hematoxilină-eozină și prin metoda imunohistochimică pentru determinarea structurii secretorii a adenoamelor de hipofiză.

Rezultate. Raportat la numărul total de cazuri, adenoamele hipofizare pure au reprezentat 33%. Ca distribuție, corelată cu tipurile hormonale, cele mai numeroase cazuri de adenoame hipofizare pure au fost reprezentate de cele LH pozitive, urmate de adenoamele hipofizare GH secretante și de prolactinoame. Adenoamele hipofizare TSH și ACTH secretante au fost reprezentate în proporții egale. Valoarea procentuală a adenoamelor hipofizare mixte a fost de 23% din totalul cazurilor. De asemenea, asocierile triple și cele constituite din 4 tipuri hormonale au fost reprezentate în proporții aproximativ egale. Adenoamele plurihormonale au reprezentat 20% din totalul cazurilor de adenoame hipofizare studiate. Dintre hormonii exprimați în adenoamele plurihormonale, GH și prolactina au prezentat frecvența cea mai crescută; atât GH cât și PRL fiind prezenți în 82% dintre adenoamele plurihormonale. ACTH a fost prezent în 73% din cazuri, iar TSH a urmat, ca frecvență, fiind regăsit imunohistochimic în 55% din adenoamele plurihormonale. Cel mai rar întâlnit hormon în adenoamele plurihormonale a fost FSH, prezent doar la 9% din cazuri. Procentul rămas, de aproximativ 24% din cazuri, au fost adenoame hipofizare nule.

Concluzii. Rata adenoamelor hipofizare pure în lotul studiat în Republica Moldova a fost mai mic decât cel întâlnit și raportat în România (34% vs. 60%). Rata cazurilor de adenoame hipofizare mixte, cu asocieri rare, a fost superioară mediei comunicate în literatura de specialitate. Acest aspect susține prezența unor factor etiopatogenici particulari zonei de unde provin adenoamele hipofizare.

Cuvinte cheie: hipofiza, adenom, patologie, histochimie, biologie celulară.

Introducere

În prezent, este bine cunoscut faptul că, evaluarea histopatologică nu mai este unanim acceptată ca metodă unică de diagnostic al adenoamelor hipofizare. Evaluarea inițială, bazată pe criteriile morfologice, este obligatoriu de a fi completată de un profil hormonal cât mai bine certificat. Din acest motiv, în prezent, diagnosticul adenoamelor hipofizare combină aspectele histopatologice cu profilul hormonal, foarte util, mai ales în cazul adenoamelor plurihormonale. Pe baza datelor prezentate mai sus, studiul nostru a continuat cu elaborarea profilului hormonal pentru fiecare caz în parte și reclassificarea adenoamelor hipofizare în corelație cu acesta. Evaluarea imunohistochimică a inclus șase tipuri de hormoni: GH, prolactină (PRL), ACTH, TSH, FSH și LH. Evaluarea microscopică și clasificarea adenoamelor hipofizare pe baza profilului hormonal s-a realizat pe baza procentului de celule pozitive și a intensității reacției.

Material și metode

Studiul a fost realizat pe material tisular (tumoare primară), recoltat postoperator în incinta Centrului Științifico-Practic de Neurologie și Neurochirurgie al Spitalului Clinic Repu-

using routine haematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry method for determining the secretory structure of the pituitary adenomas.

Results. From the total number of reported cases, 33% were pure pituitary adenomas. The pure LH positive tumours followed by GH-secreting tumours and prolactinomas, represented the majority of pituitary adenomas. ACTH- and TSH-secreting pituitary adenomas were represented in equal proportions. The percentage value of mixed pituitary adenomas was 23% of all cases. In addition, triple hormone associations and those composed of four hormonal types were represented in roughly equal proportions. Plurihormonal adenomas accounted 20% of all pituitary adenomas cases. GH and prolactin hormone showed the increased frequency of both GH and PRL of the hormones expressed in plurihormonal adenomas being present in 82% of plurihormonal adenomas. ACTH was present in 73% of cases being followed in frequency by TSH, which were found immunohistochemically in 55% of plurihormonal adenomas. The less common hormone in plurihormonal adenomas was FSH being present only 9% of cases. The remaining percentages of around 24% of cases were null pituitary adenomas.

Conclusions. Pure pituitary adenomas rate in the study group in Moldova was lower than that encountered and reported in Romania (34% versus 60%). It was extremely heterogeneous in terms of hormonal profile. Mixed pituitary adenomas rate with rare combinations was above average encountered in literature. This aspect supports the presence of private etiopathogenic factors in the area where pituitary adenomas originate.

Key words: pituitary gland, adenoma, pathology, histochemistry, cell biology.

Introduction

It is well known that histopathological evaluation is not universally accepted as a distinct method of pituitary adenomas diagnosis. Initial evaluation, based on morphological criteria, must be completed with a best possible hormonal profile. For this reason, today, pituitary adenomas diagnosis combines histopathological aspects with hormonal profile, being very useful especially in plurihormonal adenomas. Based on the data presented above, our study continued with the hormonal profile elaboration for each case and the reclassification of pituitary adenomas in correlation with it. Immunohistochemical evaluation included six types of hormones: GH, prolactin (PRL), ACTH, TSH, FSH and LH. Microscopic evaluation and pituitary adenomas classification based on hormonal profile was achieved based on the positive cells percentage and the reaction intensity.

Material and methods

The study was carried on tissue material (primary tumour) harvested postoperative at the Neurology and Neurosurgery Scientific-Practical Centre of Moldova's Republican Hospital.

blican din Republica Moldova. Pacienții au fost investigați din punct de vedere clinic și imagistic, tumorile hipofizare fiind certificate prin examen computer tomografic și investigații prin rezonanță magnetică nucleară. Pentru studiul de față, am investigat 96 de cazuri (10 hipofize normale, obținute în timpul necropsiilor și 86 de cazuri diagnosticate cu adenom hipofizar, aflate în diferite stadii de evoluție clinică).

Au fost utilizați următorii markeri pentru identificarea receptorilor la:

- STH – s-au utilizat anticorpi anti-GH (*DakoCytomation*, diluție 1:400);
- PRL – s-au utilizat anticorpi anti-PRL (*DakoCytomation*, diluție 1:250);
- TSH – s-au utilizat anticorpi anti-TSH (*DakoCytomation*, clona 0042, diluție 1:50);
- FSH – s-au utilizat anticorpi anti-FSH (*DakoCytomation*, clona C10, diluție 1:50);
- LH – s-au utilizat anticorpi anti-LH (*DakoCytomation*, clona C93, diluție 1:50);
- ACTH – s-au utilizat anticorpi anti-ACTH (*DakoCytomation*, clona C93, diluție 1:5).

Adenoamele hipofizare care au exprimat un singur hormon au fost considerate adenoame hipofizare pure. Cele care au exprimat două tipuri hormonale ca, de exemplu, GH-PRL, GH-TSH sau FSH-LH, au fost clasificate ca adenoame hipofizare de tip mixt.

În cazul în care adenoamele hipofizare au prezentat reacție imunohistochimică pozitivă la trei sau mai mulți hormoni, și la cel puțin doi dintre ei reacția a fost notată cu +2 sau +3, iar la ceilalți cu +1, acestea au fost clasificate drept adenoame hipofizare plurihormonale.

Au existat cazuri la care niciunul dintre hormonii menționați nu a fost pozitiv, iar testele adiacente pentru realizarea diagnosticului diferențial cu alte tipuri tumorale din regiunea capului și gâtului au fost, de asemenea, negative. Aceste cazuri au fost incluse în grupul adenoamelor hipofizare non-secretoare (non funcționale).

Evaluarea imunohistochimică a profilului hormonal s-a realizat, de asemenea, și pe cele 10 cazuri de țesut hipofizar normal, fiind urmărite numărul și intensitatea celulelor pozitive, dar și distribuția diferitelor tipuri celulare ale adenohipofizei în cadrul structurilor histologice normale, specifice hipofizei umane.

Rezultate

Reacția imunohistochimică pozitivă care a fost luată în considerare pentru evaluarea hormonilor hipofizari, a fost restricționată la nivelul citoplasmei celulelor tumorale și a avut un aspect granular (în cele mai multe cazuri), dar și un aspect difuz, omogen, în special, pentru ACTH, FSH și LH.

Hipofiza normală a exprimat toate tipurile de hormoni. Celulele GH pozitive au predominat, fiind organizate în cuiburi sau cordoane. Reacția a fost omogenă, cu o intensitate mare, și pattern citoplasmatic granular. Celulele pozitive la PRL au urmat, ca densitate, după cele secretante de GH. Celulele ACTH pozitive au fost organizate în structuri cu aspect de pseudo-

The patients have been examined from clinical and imaging point of view, pituitary tumors being certified by computer tomography exam and nuclear magnetic resonance investigations. For this study we investigated 96 cases (10 normal pituitary glands obtained during necropsies and 86 cases diagnosed with pituitary adenoma, in various stages of clinical development).

The following markers were used in order to identify receptors for:

- STH – anti-GH antibodies have been used (*DakoCytomation*, 1:400 dilution);
- PRL – anti-PRL antibodies have been used (*DakoCytomation*, 1:250 dilution);
- TSH – anti-TSH antibodies have been used (*DakoCytomation*, 0042 clone, 1:50 dilution);
- FSH – anti-FSH antibodies have been used (*DakoCytomation*, C10 clone, 1:50 dilution);
- LH – anti-LH antibodies have been used (*DakoCytomation*, C93 clone, 1:50 dilutions);
- ACTH – anti-ACTH antibodies have been used (*DakoCytomation*, C93 clone, 1:5 dilution).

Pituitary adenomas that expressed a single hormone were considered pure pituitary adenomas. Those that have expressed two hormones types such as GH-PRL, GH-TSH, LH-FSH were classified as mixed type pituitary adenomas.

If the pituitary adenomas showed positive immunohistochemical reaction to three or more hormones, and at least two of them were marked with 2+ or 3+ reactions and the other with 1+, they were classified as plurihormonal pituitary adenomas.

There have been cases in which any one of mentioned hormones were positive and the adjacent tests for achieving differential diagnosis to the other head and neck region tumors were also negative. These cases were included in the non-secretion pituitary adenomas group (non functional).

Immunohistochemical evaluation of hormonal profile was also performed on 10 cases of normal pituitary tissue, in order to observe the number and intensity of the positive cell and also to observe the different cell types distribution within the adenohipophysis structures in the normal human pituitary.

Results

The positive immunohistochemical reaction that was taken into account for the evaluation of pituitary hormones, was restricted to the tumor cells cytoplasm level and had a granular appearance (in most of the cases) and a homogeneous diffuse aspect, especially for ACTH, FSH and LH.

Normal pituitary expressed all types of hormones. GH positive cells prevailed being organized in nests or cords. The reaction was regular with a high intensity and granular cytoplasmic pattern. PRL positive cells followed GH secreting cells as density. ACTH positive cells were organized in pseudofollicles or pseudorosettes structures. Lowest density was recorded for FSH and LH secreting cells. They were homogeneously distributed in the pituitary construction, but isolated

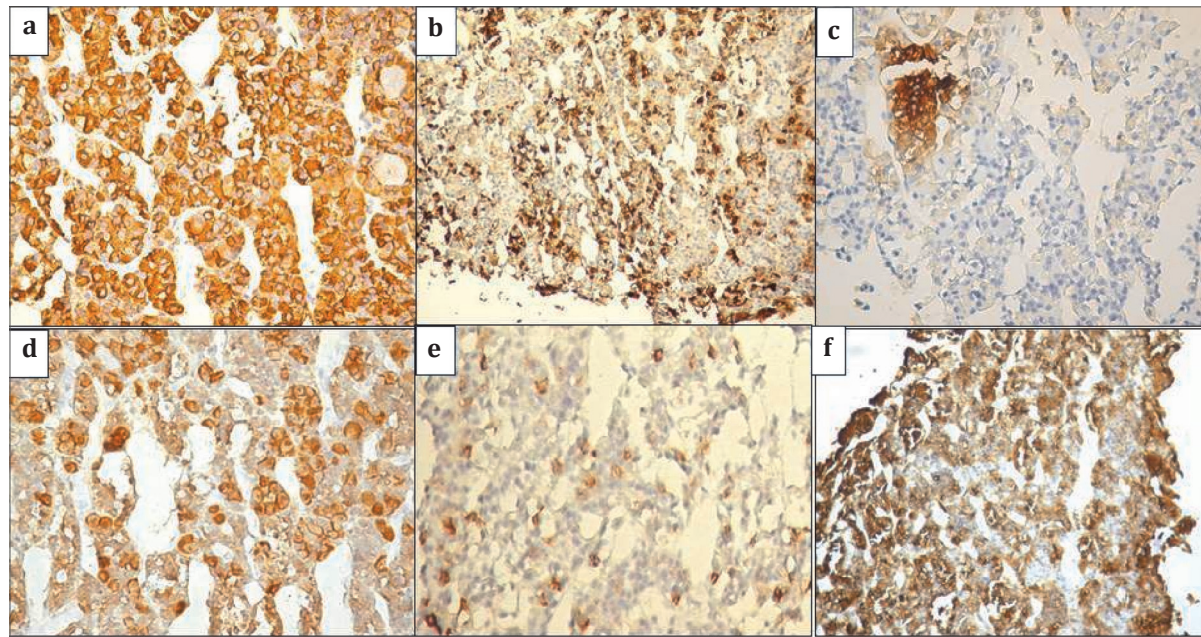


Fig. 1 Mapping-ul celulelor endocrine din hipofiza normală. Celule secretante de GH (a), PRL (b), TSH (c), ACTH (d), FSH (e) și LH (f).
Fig. 1 The normal pituitary gland endocrine cells mapping. GH secreting cells (a), PRL (b), TSH (c), ACTH (d), FSH (s) and LH (f).



Fig. 2 Expresia imunohistochimică a asocierilor întâlnite în cadrul adenoamelor hipofizare mixte care secretă două tipuri hormonale: GH-PRL (a, d), GH-TSH (a, e), GH-ACTH (a, f), GH-FSH (a, g) și GH-LH (a, h) PRL-LH (b, h), PRL-ACTH (b, i) și FSH-LH (c, h).
Fig. 2 Immunohistochemical expression of associations found in mixed pituitary adenomas that secrete two hormonal types. GH-PRL (a, d), GH-TSH (a, e), GH-ACTH (a, f), GH-FSH (a, g) and GH-LH (a, h) PRL-LH (b, h), PRL-ACTH (b, i), and FSH-LH (c, h).

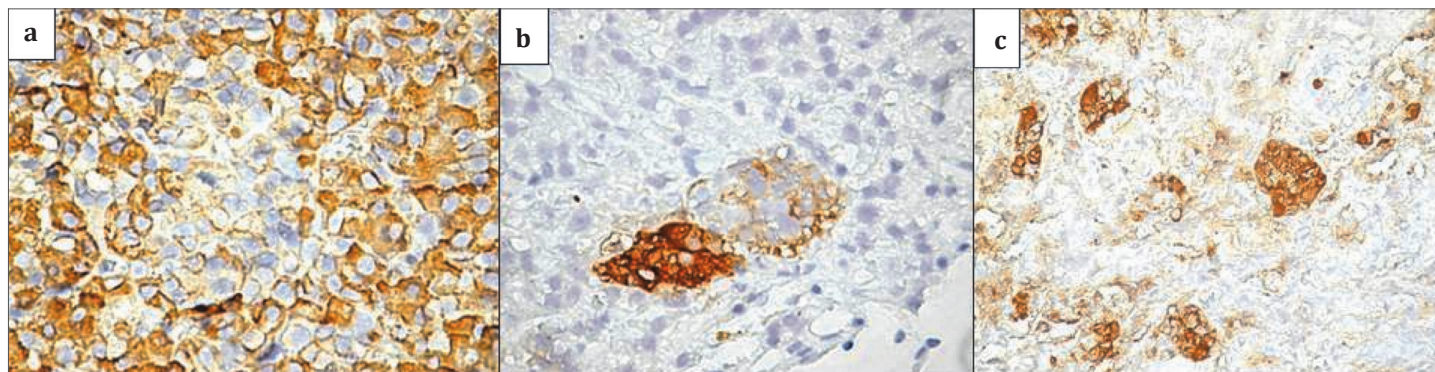


Fig. 3 Pattern-ul de distribuție al celulelor GH pozitive (a), TSH secretante (b) și a celor ACTH secretante (c) în tipurile mixte de adenoame hipofizare.

Fig. 3 Distribution pattern of GH positive cells (a), TSH-secretant cells (b) and ACTH-secretant cells (c) in mixed type pituitary adenomas.

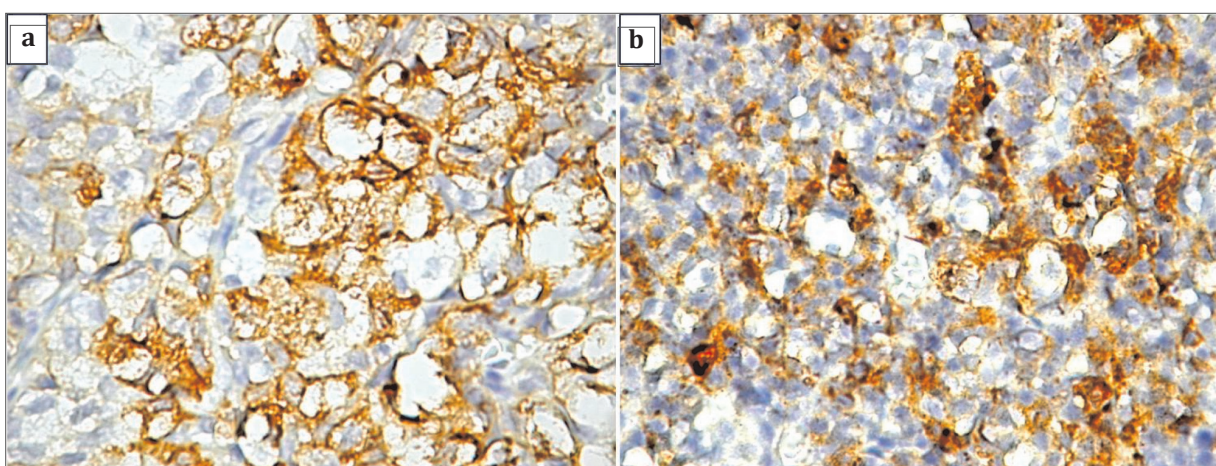


Fig. 4 Expresia FSH și LH în tipurile de adenoame hipofizare mixte de tipul FSH-LH.

Fig. 4 FSH and LH expression in mixed FSH-LH pituitary adenomas types.

zete sau pseudofoliculi. Densitatea cea mai mică a fost înregistrată pentru celulele FSH și LH secretante. Acestea au fost distribuite omogen în structura hipofizei, dar izolate unele față de altele. Rar s-a înregistrat distribuția celulelor FSH și LH pozitive în grupuri mici. Aspectele și particularitățile imunohistochemice ale profilului hormonal din hipofiza normală sunt evidențiate în Figura 1.

Heterogenitatea celulară și funcțională a hipofizei normale s-a reflectat și în profilul hormonal al adenoamelor hipofizare incluse în studiul de față.

Raportat la numărul total de cazuri, adenoamele hipofizare pure au reprezentat 33%. Ca distribuție, corelată cu tipurile hormonale, cele mai numeroase cazuri de adenoame hipofizare pure au fost reprezentate de cele LH pozitive (55%), urmate de adenoamele hipofizare GH secretante (25%) și de prolactinome (10%). Adenoamele hipofizare FSH și ACTH secretante au fost reprezentate în proporții egale (câte 5%); nu a fost identificată nicio tumoare TSH secretantă (0%).

Valoarea procentuală a adenoamelor hipofizare mixte a fost de 23% din totalul cazurilor. Au fost identificate mai multe tipuri de adenoame hipofizare mixte, definite ca fiind capabile să secrete două tipuri de hormoni: GH-PRL, GH-TSH, GH-ACTH, GH-LH și GH-FSH, PRL-LH, PRL-ACTH, FSH-LH, ACTH-LH

from each other. The distribution of FSH and LH positive cells in small groups were rarely recorded. Peculiarities and immunohistochemical aspects of normal pituitary hormonal profile are shown in Figure 1.

Cellular and functional heterogeneity of normal pituitary was reflected in the hormonal profile of pituitary adenomas included in this study.

Pure pituitary adenomas consisted 33% of the total number of reported cases. Speaking of distribution correlated with hormonal types, the majority of pure adenomas were LH-positive (55%), being followed by GH-secreting pituitary adenomas (25%) and prolactinomas (10%). FSH- and ACTH-secreting pituitary adenomas were represented in equal proportions (5%), no TSH secretant tumor was detected (0%).

The percentage value of mixed pituitary adenomas was 23% of all cases. Several mixed pituitary adenomas types were identified as being capable of secreting two types of hormones, GH-PRL, GH-TSH, GH-ACTH, GH-LH, GH-FSH, PRL-LH, PRL-ACTH, FSH-LH, ACTH-LH, and TSH-FSH. One case showed mixed hormonal secretion of TSH-ACTH type. Immunohistochemical expression of each combination is shown in Figure 2. As is apparent from the above description, the most frequent combination was performed by GH, which was co-expressed

și TSH-FSH. Un singur caz a prezentat secreție hormonală mixtă de tipul TSH-ACTH. Expresia imunohistochimică a fiecărei asocieri este prezentată în Figura 2. Așa cum rezultă din descrierea de mai sus, cea mai frecventă asocieră a fost realizată de GH, care s-a co-exprimit, practic, cu toate celelalte tipuri de hormoni. Expresia GH a fost întotdeauna de intensitate moderată și mare în cadrul acestei asocieri, în comparație cu ceilalți hormoni, pentru care a predominat o intensitate slabă, în foarte rare cazuri fiind întâlnită o intensitate moderată sau mare. În cadrul asocierilor dintre GH și alte tipuri de hormoni, s-a întâlnit un pattern de distribuție particular pentru asocierile GH-TSH și GH-ACTH.

Astfel, dacă pentru celelalte asocieri, atât celulele GH pozitive, cât și cele care au exprimat ceilalți hormoni, au avut o distribuție omogenă dar difuză, pentru asocierile de tip GH-TSH, spre exemplu, celulele GH secretante și-au păstrat pattern-ul de distribuție difuz (Figura 3a), în timp ce, cele TSH pozitive au fost organizate în structuri compacte ce au format grupuri mici, cu aspect insular, distribuite în interiorul ariilor difuze GH pozitive (Figura 3b). Pentru asocierea GH-ACTH, s-a păstrat aspectul de "hot-spot" al distribuției ariilor ACTH pozitive, cu particularitatea că celulele ACTH pozitive au fost organizate sub formă de pseudofolliculi, rozete sau cordoane, dispuse în interiorul ariilor GH pozitive (Figura 3c). S-a observat o intensitate heterogenă a celulelor ACTH pozitive, atât în interiorul ariilor cu aspect pseudofolicular, cât și în interiorul cordoanelor de celule secretoare de ACTH. Heterogenitatea expresiei ACTH a fost caracterizată printr-o alternanță de intensitate moderată și mare a expresiei imunohistochimice.

Ca frecvență, a urmat asocierea dintre expresia hormonilor FSH și LH. În acest caz, ambii hormoni au fost exprimați imunohistochimic cu o intensitate relativ egală, fiind cuantificată, în cele mai multe cazuri, de astfel de asociere, drept moderată și mare (Figura 4 a, b).

Adenoamele plurihormonale au reprezentat 20% din totalul cazurilor de adenoame hipofizare studiate. Asocierile hor-

with almost all other types of hormones. GH expression was always moderate and large in this combination compared to other hormones with a predominantly low intensity, in very rare cases being found moderate or greater intensity. In relationship with other hormones, GH had a particular distribution pattern, and GH-TSH, GH-ACTH associations has been met.

Thus, if the other associations both GH cells positive and those that expressed other hormones had a homogeneous but diffuse distribution, as the GH-TSH associations, GH secreting cells kept their diffuse distribution pattern (Figure 3a) while TSH positive cells were organized in compact structure that formed insular looking small groups distributed within the diffuse GH positive areas (Figure 3b). For the GH-ACTH association "hot-spot" appearance was kept of ACTH positive areas distribution, with the particularity that ACTH positive cells were organized as pseudofollicles, rosettes or cords arranged in GH positive areas (Figure 3c). A heterogeneous intensity of ACTH positive cells has been observed, both within the pseudofollicular areas and inside of ACTH-secreting cells cords. ACTH expression heterogeneity was characterized by alternating of high and moderate intensity immunohistochemical expression.

As frequency, the association of FSH and LH hormones expression has followed. In this case, both hormones were expressed by relatively equal immunohistochemical intensity, being quantified in most such associated cases as moderate and high (Figure 4 a, b).

Plurihormonal adenomas accounted 20% of all pituitary adenomas studied cases. Hormonal associations were very heterogeneous, being composed of three or four hormones. Among the studied cases, a certain type association did not prevail as results from Figure 5.

Triple hormone associations and those composed of four hormone types were also represented in roughly equal proportions. GH and prolactin hormone showed increased frequency,

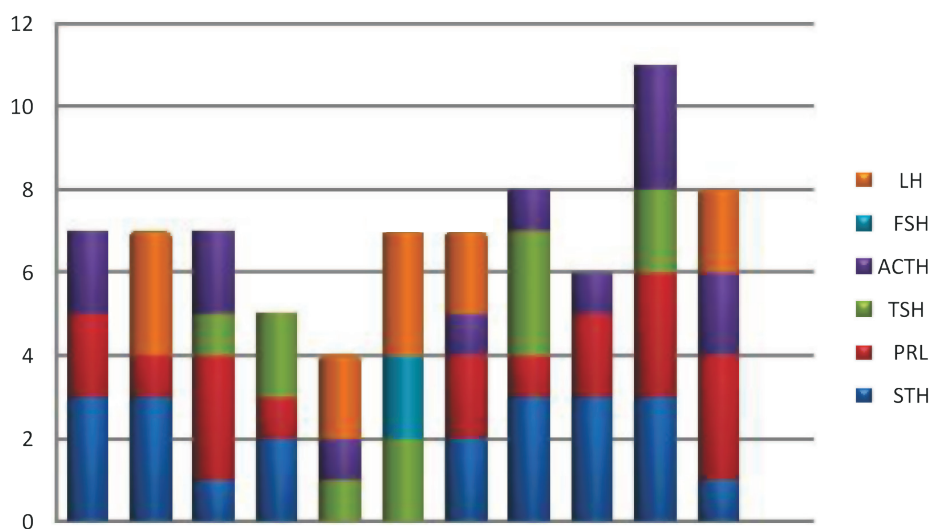


Fig. 5 Asocierile plurihormonale întâlnite pentru adenoamele hipofizare care au exprimat imunohistochimic trei sau patru tipuri de hormoni.
Fig. 5 Common plurihormonal associations found in pituitary adenomas that expressed immunohistochemically three or four types of hormones.

monale au fost foarte heterogene, fiind constituite din trei sau patru tipuri hormonale. Între cazurile studiate, nu a predominat un anumit tip de asociere, așa cum rezultă și din Figura 5.

De asemenea, asocierile triple și cele constituite din 4 tipuri hormonale au fost reprezentate în proporții aproximativ egale. Dintre hormonii exprimați în adenoamele plurihormonale, GH și prolactina au prezentat frecvența cea mai crescută; atât GH cât și PRL fiind prezenți în 82% dintre adenoamele plurihormonale. ACTH a fost prezent în 73% din cazuri, iar TSH a urmat ca frecvență, fiind regăsit imunohistochimic în 55% din adenoamele plurihormonale. Cel mai rar întâlnit hormon în adenoamele plurihormonale a fost FSH, prezent doar la 9% din cazuri.

În ceea ce privește intensitatea reacției imunohistochemice, pentru GH și PRL a predominat o expresie intensă și moderată, în timp ce, pentru celelalte tipuri hormonale, reacția observată a fost slabă sau moderată.

De exemplu, pentru TSH a predominat intensitatea moderată, în timp ce ACTH a fost caracterizat de o expresie predominant slabă în cadrul asocierilor plurihormonale. Procentul rămas, de aproximativ 24% din cazuri, a fost de adenoame hipofizare nule, care nu au fost pozitive pentru niciun tip de hormon inclus în profilul imunohistochimic al adenoamelor hipofizare.

Discuții

Profilul hormonal al adenoamelor hipofizare este un pas obligatoriu în evaluarea tumorilor hipofizare, cu un impact major în diagnosticul și terapia acestor tipuri de tumori [1]. Practic, în acest moment, nu se mai acceptă ca diagnostic doar evaluarea histopatologică de tip convențional pe preparatele colorate cu metode de rutină. Datele din literatură, referitoare la profilul hormonal al adenoamelor hipofizare sunt heterogene, iar tipurile hormonale descrise prezentând o mare variabilitate procentuală, dependentă de numărul de cazuri sau aria geografică de unde acestea provin. Bălinișteanu și colab., au raportat în 2011 un procent global de aproximativ 60% de adenoame hipofizare pure (secretante al unui singur tip hormonal) din lotul studiat în aria de sud a României [2]. În contrast, studiul nostru a relevat prezența unui procent de aproximativ 34% de adenoame hipofizare monosecretante prin analiza cazurilor din Republica Moldova. Mori și colab., în 2013, au prezentat date rezultate din studiul unui număr de 242 de adenoame hipofizare și au concluzionat că 45% dintre acestea sunt monohormonale [3]. Un procent relativ similar cu cel găsit în prezentul studiu, a fost publicat de Shao și Li, care au observat că, 37 % din adenoamele hipofizare sunt monohormonale [4]. Ca o particularitate a studiului nostru și, respectiv, ca o particularitate a adenoamelor hipofizare monosecretante din Republica Moldova, mai mult de jumătate dintre adenoamele hipofizare monosecretante au fost LH secretante. Celelalte studii au raportat ca predominante adenoamele secretante de GH, respectiv PRL, aspect care a fost observat și în studiul nostru. Într-adevăr, adenoamele GH secretante le-au urmat pe cele secretante de LH, fiind secundate de cele PRL pozitive, aspecte care sunt în concordanță cu datele publicate anterior [1-3].

both GH and PRL being present in 82% of plurihormonal adenomas. ACTH was present in 73% of cases being followed in frequency by TSH, which was found immunohistochemically in 55% of plurihormonal adenomas. The less common hormone in plurihormonal adenomas was FSH being present only 9% of cases.

Regarding the immunohistochemical reaction intensity to GH and PRL prevailed intense and moderate expression, while for other hormones types, the reaction was weak or moderate. For example, a moderate intensity predominated for TSH hormone while ACTH was characterized by a predominant poor expression in plurihormonal associations. The remaining percentages of around 24% of cases were null pituitary adenomas, not positive for any type of hormone included in the pituitary adenomas immunohistochemical profile.

Discussion

Hormonal profile of pituitary adenomas is a mandatory step in the pituitary tumors evaluation with a major impact in the diagnosis and treatment of these tumours types [1]. At this moment, only conventional histopathological samples evaluation stained with routine methods is no longer accepted as diagnosis. Literature data regarding the pituitary adenomas hormonal profile are diverse, the described hormonal types presenting great percentage variability dependent on total number of cases or geographical area of origin. Bălinișteanu *et al*, reported in 2011 an overall percentage of 60% of pure pituitary adenomas (secreting a single hormone type) in the south of Romania area study group [2]. In contrast, our study revealed a percentage of approximately 34% of monosecretant pituitary adenomas by analyzing cases from Republic of Moldova. Mori *et al*, in 2013 presented data of 242 pituitary adenomas cases, and concluded that 45% of them are monohormonal [3]. A relatively similar percentage, to that found in this study, was published by Shao Li who observed that 37% of pituitary adenomas are monohormonal [4]. As a feature of our study and as a feature of monosecretant pituitary adenomas in republic of Moldova, more than half of monosecretant pituitary adenomas were LH secreting. Other studies reported that GH- respectively PRL secreting adenomas predominated, things that have been observed in our study. Indeed, GH-secreting adenomas followed the LH-secreting adenomas, followed by PRL secreting, aspects supplemented by the previously published data [1-3].

Mixed pituitary adenomas, characterized by immunohistochemical expression of two pituitary hormones represented 23% of all cases included in the study. PRL-GH-type associations prevailed, things that accords with the literature data [3]. Currently, there is a disagreement regarding the existence of such associations in mixed pituitary adenomas.

Literature data suggest that initially a PRL secreting pituitary adenoma may relapse as a GH secreting pituitary adenoma that produced specific clinical symptoms of acromegaly. This switch was partly explained by the presence of *gsp* oncogene mutations, specifically *Arg201His* mutation in *GNAS* gene [3]. These changes occurred in relapsed pituitary adenomas have a major impact on their therapy and prognosis.

Adenoamele hipofizare mixte, caracterizate prin expresia imunohistochimică a doi hormoni hipofizari, au reprezentat 23% din totalul cazurilor incluse în studiu. Au predominat asocierile de tip GH-PRL, aspect concordant cu datele din literatură [3]. În prezent, persistă controverse legate de existența acestui tip de asociere în adenoamele hipofizare mixte. Date din literatură au sugerat faptul că, un adenom hipofizar care inițial era PRL secretant, poate să recidiveze sub forma unui adenom hipofizar GH secretant, care a produs simptomatologie clinică specifică acromegaliei. Acest switch a fost explicat, parțial, prin prezența unei mutații a oncogenei *gsp*, mai exact, mutația *Arg201His* în gena *GNAS* [4]. Aceste modificări apărute în recidivele adenoamelor hipofizare au un impact major asupra terapiei și prognosticului acestora.

Un alt aspect particular și, deocamdată, incomplet elucidat, vizează asocierea hormonală de tip GH-TSH. Datele prezente în literatură consideră aceste adenoame hipofizare mixte ca fiind foarte rare, procentul lor variind între 0,5-17% din totalul adenoamelor hipofizare [5, 6]. Procentul de 5%, raportat de noi pentru adenoamele hipofizare, se încadrează în limitele descrise în literatură. Acest tip de adenoame hipofizare mixte par să aibă un comportament agresiv, fiind caracterizate printr-o invazie crescută și un indice de proliferare ridicat, peste media specifică altor tipuri de adenoame hipofizare, cel mai probabil, pe seama TSH [7].

Asocierea GH-ACTH în adenoamele hipofizare este considerată, la fel, o asociere foarte rară. Am evaluat, în studiul nostru, două astfel de cazuri. Date relativ recente din literatură asociază o astfel de co-expresie cu mutații genice [8]. Evaluarea lor este sporadică în literatură, fiind limitată doar la prezentarea unor cazuri clinice și, mult mai rar, în cadrul unor studii de cercetare extensivă [9-11]. Un caz izolat a fost raportat de Zielinski și colab. (2013), care au descris un adenom hipofizar GH-ACTH secretant, dar, în care componentele GH și ACTH secretante au fost clar delimitate și situate în zone diferite, distincte ale adenohipofizei [11]; prin punctarea acestui aspect, autorii au sugerat prezența, de fapt, a două tumori distincte, concomitent, la nivelul hipofizei.

Asocierea hormonală de tipul PRL-ACTH a fost întâlnită în studiul nostru în 3% din cazuri. Acest procent se înscrie în limitele raportate în literatură [13]. La fel de rară ca și precedentă, această asociere ridică mari probleme în ceea ce privește instituirea tratamentului. Un studiu realizat prin co-cultivarea celulelor PRL secretante și ale celor ACTH secretante, și care au fost tratate succesiv cu factori de tipul CRH sau TRH, a demonstrat că stimularea secreției celor doi hormoni nu este uniformă, aceasta fiind selectivă și dependentă de tipul de factor utilizat. Astfel, s-a demonstrat că modul de secreție al PRL în adenoamele mixte de tip PRL-ACTH este diferit și răspunde diferit la terapiile aplicate, comparativ cu secreția de PRL din prolactinoamele pure [14].

Majoritatea cazurilor clinice de asociere a PRL cu ACTH, descrise în literatură, și au fost constatate la pacienți cu boală Cushing. În pofida acestui aspect comun, modalitatea de debut clinic al adenoamelor hipofizare PRL-ACTH secretante a fost extrem de heterogenă. Iacovazzo și colab. (2013), au descris un caz al unui pacient de 60 de ani, care a dezvoltat inițial un

Another particular aspect and now incompletely elucidated targets GH-TSH hormone combination type. Literature data consider these mixed pituitary adenomas as very rare, their percentage ranging from 0.5 to 17% of all pituitary adenomas [5, 6]. The observed by us 5% of studied pituitary adenomas are within the limits described in literature. This type of mixed pituitary adenomas appear to have aggressive behaviour being characterized by an increased invasion and a high proliferation index, above the average of other specific types of pituitary adenomas, most likely on TSH account [7].

The GH-ACTH association in pituitary adenomas is also considered a very rare combination. In our study, we evaluated two cases of this kind. Relatively recent literature data associated such co-expression with gene mutations [8]. Their assessment is sporadic in literature being limited to the presentation of clinical cases and more rarely in some extensive research studies [9-11]. An isolated case was reported by Zielinski *et al.* (2013), who described GH-ACTH-secreting pituitary adenoma, but the GH and ACTH-secreting components were clearly marked and located in different distinct adenohipophysis areas [12], by puncturing this portion, authors actually suggested the presence of two simultaneous distinct pituitary tumors.

The PRL-ACTH hormone type association was found in our study in an amount of 3% of cases. This percentage is within the limits reported in literature [13]. As rare as the previous one, this combination presents serious problems in terms of therapy in such cases. A study conducted by co-culturing PRL-secreting and ACTH-secreting cells, that were treated sequentially with factors such as CRH and TRH, demonstrated that stimulation of the two hormones secretion is not uniform, being selective and depended of the type of stimulant factor used. Thus it was demonstrated that PRL secretion mode, in mixed- PRL-ACTH adenomas type, is different and responds differently to the applied therapies compared with PRL secretion in pure prolactinomas [14].

Most of the clinical cases described in the literature and characterized by the PRL-ACTH association were patients with Cushing's disease. Despite this common aspect, clinical onset way of PRL/ACTH-secreting pituitary adenomas was extremely heterogeneous. Iacovazzo *et al.* (2013) described a case of a 60 years patient who initial developed a prolactinoma solved by drug therapy that subsequently had Cushing's disease symptoms certificated by metachrom ACTH secreting pituitary adenoma [13]. Mittelbronn described a patient with clinical symptoms of Cushing's disease but with the presence of two distinct components of pituitary adenoma, PRL-secreting and ACTH-secreting, histologically and immunohistochemically proved [15]. Clear demarcation between PRL and ACTH-secreting areas were also noted in our case. Furthermore, the authors have noted an increase in the proliferation index of tumour cells in the PRL secreting area compared with the ACTH positive one. For patients with Cushing's disease presence of ACTH and PRL double secretion is histologically based on ACTH-secreting adenoma or nodular hyperplasia associated with ACTH-secreting cells of a "silent" or functional prolactinoma determining hyperprolactinemia [16].

prolactinom, rezolvat prin terapie medicamentoasă, pentru ca, ulterior, să prezinte simptome de boală Cushing cu certificarea prezenței unui adenom hipofizar ACTH secretant metacrom [13]. Mittelbronn descrie cazul unui pacient cu simptomatologie clinică de boală Cushing, dar cu prezența unui adenom hipofizar cu două componente distincte, PRL și ACTH secretante, certificate histologic și imunohistochimic [15]. Delimitarea clară între zonele PRL și ACTH secretante a fost remarcată, de asemenea, și pentru cazul nostru. Mai mult, autorii au remarcat o creștere a indicelui de proliferare al celulelor tumorale în zona PRL secretantă, comparativ cu cea ACTH pozitivă. Pentru pacienții cu boală Cushing, prezența secreției duble de PRL și ACTH are drept bază histologică un adenom corticotrop secretant sau o hiperplazie nodulară cu celule secretante de ACTH, asociat unui prolactinom „ silențios ” sau funcțional care determină hiperprolactinemie [16].

Adenoamele hipofizare secretante de FSH și LH au fost, de asemenea, prezente în studiul nostru. Este binecunoscut faptul că, acest tip de adenoame hipofizare este extrem de controversat, atât din punctul de vedere al simptomatologiei clinice cât și al aspectelor microscopice și imunohistochimice. Majoritatea autorilor clasifică adenoamele hipofizare FSH-LH secretante ca fiind adenoame de tip non-funcțional, bazate pe absența imunoreactivității la anticorpii corespondenți. Totuși, alți autori par să fie mai precauți și consideră aceste adenoame hipofizare ca fiind non-imunoreactive datorită cantității reduse de antigen care poate fi detectat în celulele adenomatoase [17]. Cazurile pe care le-am identificat în studiul nostru ca fiind FSH-LH secretante, au fost, în majoritate, adenoame hipofizare cu celule cromofobe (cu o singură excepție), iar pattern-ul predominant a fost cel papilar. Intensitatea reacției a fost moderată sau mare, din acest motiv și noi considerăm că termenul de non-imunoreactiv este mai corect decât cel de non-funcțional.

O posibilă explicație a acestor discordanțe de clasificare a adenoamelor hipofizare de tip FSH-LH ca nule sau non-imunoreactive este dată de un studiu al lui Horvath și Kovacs, care au demonstrat prin microscopie electronică diferențe structurale, dependente de sexul pacientului, în celulele adenoamelor gonadotrofe. Dacă în cazul celulelor provenite din adenoamele gonadotrofe masculine, organitele celulare erau slab dezvoltate și necaracteristice, similare cu cele din adenoamele hipofizare nule, în celulele adenoamelor hipofizare gonadotrofe provenite de la sexul feminin, au fost evidențiate dilatații veziculare ale complexului Golgi, distincte, în „fagure de miere”, aspect care nu este caracteristic niciunui alt tip de celule din variatele forme de adenoame hipofizare [18]. Ulterior, și alți autori au confirmat aspectul dihotomic dependent de sexe în ceea ce privește modificările structurale din adenoamele hipofizare de tip gonadotrof [19]. Totuși, aceste aspecte rămân încă foarte controversate [20] și incomplet elucidate [21, 22].

Ca un aspect particular al studiului nostru am întâlnit două asocieri extrem de rar citate în literatură: ACTH-LH și TSH-FSH. Adenoamele hipofizare, în care un hormon gonadotrof a fost asociat cu ACTH, par să aibă un profil molecular aparte [23] și un comportament clinic particular.

Asocierea TSH-FSH a fost raportată în literatură în puține

FSH and LH secreting pituitary adenomas have also been present in our study. It is well known that this pituitary adenomas type is highly controversial, in terms of both clinical symptoms and the microscopic and immunohistochemical aspects. Most authors classify LH-FSH secreting pituitary adenomas as non functional adenomas, based on the absence of immunoreactivity corresponding antibodies. However, other authors seem to be more cautious and consider these as non immunoreactive pituitary adenomas due to the reduced amount of antigen that can be detected in adenomatous cells [17]. Cases identified in our study as FSH-LH secreting were mostly chromophobe cell pituitary adenomas (with one exception) with papillary predominant pattern. The intensity of the reaction was moderate or high, for this reason we believe that the term non-immunoreactive is more correct than that of non-functional.

A possible explanation for these classification discrepancies of FSH-LH pituitary adenomas type as void or non-immunoreactive is given by Horvath and Kovacs electron microscopy study that showed structural differences in gonadotroph adenoma cells dependent on patient's sex. If inside cells taken from male gonadotroph adenomas, organelles were underdeveloped, and not typical, similar to those of null pituitary adenomas, in gonadotroph pituitary adenomas cells taken from females, dilated blistering of the Golgi complex were found, they were distinct in “honeycomb” arrangements, aspect that is not characteristic for any other cell type of various forms of pituitary adenomas [18]. Subsequently, other authors have confirmed the dichotomous sex dependent appearance in terms of structural changes in gonadotrophic type pituitary adenomas [19]. However, these issues remain controversial [20] and incompletely elucidated [21, 22].

As a particular aspect of our study, we have met; two extremely rare cited in literature associations: ACTH-LH, and TSH-FSH. Pituitary adenomas in which a gonadotropic hormone has been associated with ACTH appear to have a particular molecular profile [23] and a particular clinical behaviour.

The TSH-FSH association had been reported only in few studies in literature, because TSH-secreting pituitary adenomas represent less than 2% of all pituitary adenomas [24]. The TSH-FSH association is also rarely mentioned in literature [25], being described association between β subunit of TSH IR and β subunit of FSH. Due to the rarity of this association, there are currently no data describing the clinical course of patients with such associations. Plurihormonal adenomas showed no significantly different peculiarities from those reported in literature.

Conclusions

- 1) The pure pituitary adenomas rate in the Republic of Moldova study group was lower than that encountered and reported in Romania (34% versus 60%). Of these, the LH secreting pure pituitary adenomas prevailed, being observed in 50% of the pure pituitary adenomas cases.
- 2) Increased TSH expression in the studied pituitary adenomas was noticed, but in one case, this expression was

studii datorită rarității adenoamelor hipofizare TSH secretante, care reprezintă sub 2% din totalul adenoamelor hipofizare [24]. Asocierea TSH-FSH este și mai rar menționată în literatură [25], fiind descrisă ca o asociere între subunitatea β a TSH IR și subunitatea β a FSH. Datorită rarității acestei asocieri, nu există, în prezent, date care să caracterizeze evoluția clinică a pacienților cu astfel de asocieri. Adenoamele plurihormonale nu au prezentat particularități semnificativ diferite de cele raportate în literatură.

Concluzii

- 1) Rata adenoamelor hipofizare pure în lotul studiat în Republica Moldova a fost mai mic decât cel întâlnit și raportat în România (34% vs. 60%). Dintre acestea, au predominat adenoamele hipofizare pure LH secretante, ele fiind observate în peste 50% din cazurile de adenoame hipofizare pure.
- 2) A fost remarcată o expresie crescută a TSH în adenoamele hipofizare studiate, dar într-un singur caz, aceasta nu a fost asociată cu expresia altor tipuri de hormoni; majoritatea cazurilor în care a fost remarcat profilul TSH pozitiv, fiind mixte sau plurihormonale.
- 3) Rata cazurilor de adenoame hipofizare mixte cu asocieri rare a fost superioară mediei comunicate în literatura de specialitate. Acest aspect susține ipoteza prezenței unor factori etiopatogenici particulari zonei de proveniență a adenoamelor hipofizare.
- 4) Majoritatea cazurilor cu profil hormonal rar nu au fost caracterizate până în prezent din punct de vedere clinicopatologic și, acest fapt, reprezintă scopul continuării cercetărilor în domeniul patologiei hipofizare, particularizat pentru Republica Moldova.

Declarația de conflict de interese

Autorul declară lipsa conflictului de interese.

Referințe / references

1. Chanson P, Salenave S. Diagnosis and treatment of pituitary adenomas. *Minerva Endocrinol.*, 2004; 29 (4): 241-75.
2. Mori R, Inoshita T, Takahashi-Fujigasaki J. *et al.* Clinicopathological features of growth hormone-producing pituitary adenomas în 242 acromegaly patients: Classification according to hormone production and cytokeratin distribution. *ISRN Endocrinology*, 2013; 1-8.
3. Shao S, Li X. Clinical features and analysis în 1385 Chinese patients with pituitary adenomas. *J. Neurosurg. Sci.*, 2013; 57 (3): 267-75.
4. Lania A, Ferrero S, Pivonello R. *et al.* Evolution of an aggressive prolactinoma into a growth hormone secreting pituitary tumor coincident with GNAS gene mutation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010; 95 (1): 13-7.
5. Skorić T, Korsić M., Zarković K., Plavsić V. *et al.* Clinical and morphological features of undifferentiated monomorphous GH/TSH-secreting pituitary adenoma. *Eur. J. Endocrinol.*, 1999; 140 (6): 528-37.
6. Pecozz P, Persani L. Thyrotropin-secreting pituitary adenomas. Chapter 13b. <http://www.thyroidmanager.org/chapter/thyrotropin-secreting-pituitary-adenomas>.
7. Saeger W, Lüdecke D, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe H, Petersenn S. Pathohistological classification of pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tumor Registry. *Eur. J. Endocrinol.*, 2007; 156 (2): 203-16.
8. Kovacs K., Horvath E., Stefaneanu L. *et al.* Pituitary adenoma producing growth hormone and adrenocorticotropin: a histological, immunocytochemical, electron microscopic, and *in situ* hybridization study. Case report. *J. Neurosurg.*, 1998; 88 (6): 1111-5.
9. Mazarakis N., Kontogeorgos G., Kovacs K., Horvath E., Borboli N., Piaditis G. Composite somatotroph-ACTH-immunoreactive pituitary adenoma with transformation of hyperplasia to adenoma. *Pituitary*, 2001; 4 (4): 215-21.
10. Arita K., Uozumi T, Kuwabara S. *et al.* A case of pituitary adenoma producing both growth hormone (GH) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH). *Endocrinol Jpn.*, 1991; 38 (3): 271-8.

not associated with expression of other types of hormones; most cases that positive TSH was encountered, were mixed or plurihormonal.

- 3) Rate of mixed pituitary adenomas with rare combinations were above average data encountered in literature. This aspect supports the presence of particular ethiopathogenic factors for the area they come from.
- 4) Most of the rare hormonal profile cases had not been characterized so far in clinical-pathological terms and this is the purpose of continuing research on pituitary pathology custom in the Republic of Moldova.

Declaration of conflicting interests

Nothing to declare.

11. Zieliński G., Maksymowicz M., Podgórski J., Olszewski W. Double, synchronous pituitary adenomas causing acromegaly and Cushing's disease. A case report and review of literature. *Endocr Pathol.*, 2013; 24 (2): 92-9.
12. Rasul F., Jaunmuktane Z., Khan A., Phadke R., Powell M. Plurihormonal pituitary adenoma with concomitant adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and growth hormone (GH) secretion: a report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014; 156 (1): 141-6.
13. Iacovazzo D., Bianchi A., Lugli F. *et al.* Double pituitary adenomas. *Endocrine*, 2013; 43 (2): 452-7.
14. Yamaji T., Ishibashi M., Teramoto A., Fukushima T. Prolactin secretion by mixed ACTH-prolactin pituitary adenoma cells in culture. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1985; 108 (4):456-63.
15. Mittelbronn M., Psaras T., Capper D., Meyermann R., Honegger J. ACTH- and prolactin-producing pituitary gland microadenoma with biphasic features of atypia and intermediate filament expression. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 2006; 27 (1-2): 89-92.
16. Meij B., Lopes M., Vance M., Thorner M., Laws E. Double pituitary lesions in three patients with Cushing's disease. *Pituitary*, 2000; 3 (3): 159-68.
17. Raverot G., Jouanneau E., Trouillas J. Management of endocrine disease: clinico-pathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *Eur. J. Endocrinol.*, 2014; 170 (4): R121-32.
18. Horvath E., Kovacs K. Gonadotroph adenomas of the human pituitary: sex-related fine-structural dichotomy. A histologic, immunocytochemical, and electronmicroscopic study of 30 tumors. *Am. J. Pathol.*, 1984; 117 (3): 429-40.
19. Kontogeorgos G., Horvath E., Kovacs K. Sex-linked ultrastructural dichotomy of gonadotroph adenomas of the human pituitary: an electron microscopic analysis of 145 tumors. *Ultrastruct. Pathol.*, 1990; 14 (6): 475-82.
20. Sano T., Mader R., Asa S., Qian Z., Hino A., Yamada S. "Honeycomb Golgi" in pituitary adenomas: not a marker of gonadotroph adenomas. *Endocr. Pathol.*, 2003; 14 (4): 363-8.
21. Sano T., Kovacs K., Asa S. *et al.* Pituitary adenoma with „honeycomb Golgi" appearance showing a phenotypic change at recurrence from clinically nonfunctioning to typical Cushing disease. *Endocr. Pathol.*, 2002; 13 (2): 125-30.
22. Cooper O., Melmed S. Subclinical hyperfunctioning pituitary adenomas: the silent tumors. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 26 (4): 447-60.
23. Cooper O., Ben-Shlomo A., Bonert V., Bannykh S., Mirocha J., Melmed S. Silent corticogonadotroph adenomas: clinical and cellular characteristics and long-term outcomes. *Horm. Cancer*, 2010; 1 (2): 80-92.
24. Clarke M., Erickson D., Castro M., Atkinson J. Thyroid-stimulating hormone pituitary adenomas. *J. Neurosurg.*, 2008; 109 (1): 17-22.
25. Tritos N., Eppakayala S., Swearingen B. *et al.* Pathologic and clinical features of pituitary adenomas showing TSH immunoreactivity. *Pituitary*, 2013; 16 (3): 287-93.