

CORELAȚIA IMUNOMORFOLOGICĂ ÎN ADENOAMELE HIPOFIZARE

Eugen Melnic – dr. în șt. med., conf. univ.,
IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Catedra Morfopatologie
e-mail eugen.melnic@usmf.md

Rezumat

Acest articol oferă o abordare practică în diagnosticul adenoamelor hipofizare, care sunt trimise la anatomopatolog în momentul intervenției chirurgicale. Examenul inițial necesită colorație de rutină cu hematoxilina și eozina. Acestea sunt evaluate cu diferiți markeri imunohistochimici care sunt acum disponibili pentru a clasifica cu exactitate aceste patologii. Subclasificările complexe ale adenoamelor hipofizare sunt recunoscute pentru a reflecta caracteristicile clinice specifice și modificările genetice care permit tratamentul personalizat pentru pacienții cu tulburari pituitare.

Cuvinte-cheie: Adenom, hipofiză, imunohistochimie, markeri

Summary. The immuno-morphological correlation in pituitary adenomas

This review provides a practical approach to the diagnosis of pituitary specimens that are sent to the pathologist at the time of surgery. The initial examination requires routine haematoxylin and eosin staining. These are evaluated with several special stains and immunohistochemical markers that are now available to accurately classify these pathologies. The complex subclassification of pituitary adenomas is now recognized to reflect specific clinical features and genetic changes that predict targeted treatments for patients with pituitary disorders.

Key words: adenoma, pituitary, immunohistochemistry, markers

Резюме. Иммуно-морфологическая взаимосвязь в аденомах гипофиза

В данной статье представлен практический подход к диагностике аденом гипофиза. Первоначально требуется обычное окрашивание гематоксилином и эозином. Далее ткань обрабатывается различными иммуногистохимическими маркерами, которые позволяют точно классифицировать эти патологии. Комплексная классификация аденомы гипофиза отражает конкретные клинические особенности и генетические изменения, которые позволяют персонализированное лечение пациентов с расстройствами гипофиза.

Ключевые слова: аденома, гипофиз, иммуногистохимические маркеры

Introducere. Diagnosticul histopatologic convențional al adenoamelor hipofizare tinde să fie, în momentul de față, marginalizat odată cu apariția profilului hormonal bazat pe imunohistochimie. Din acest motiv, corelațiile morfologice-imunohistochimice sunt rar citate în literatură, foarte frecvent fiind menționate doar aspectele imunohistochimice și neglijate particularitățile citologice ale pattern-ului morfologic de creștere întâlnite pentru adenoamele hipofizare. Variabilitatea morfologică a adenoamelor hipofizare depinde și de zona geografică, fapt raportat de literatură (Geographic- Related Differences of Pituitary Adenomas Hormone Profile: Analyses of Two Groups Coming from Southstream and Eastern Europe. *Int J Endocrinol.* 2015). Recent, Monsalvez și colaboratorii (2014) [1] au publicat date referitoare la corelația dintre pattern-ul de creștere, aspectele histopatologice și parametrii clinici. Autorii au demonstrat corelația dintre pattern-ul de creștere preoperator și postoperator precum și corelația dintre acesta și vârstă sau sex. Date despre aspectele de tinctorialitatea celulară sau pattern-ul de creștere histopatologic nu au fost citate în cadrul aceluiași studiu. 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 [2,4]. 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, tipurile hormonale descrise prezentând o mare variabilitate procentuală dependentă de numărul de cazuri sau aria geografică de unde provin. Bălinișteanu și colab, au raportat în 2011 un procent global de aproximativ 60% de adenoame hipofizare pure (secretante a unui singur tip hormonal) din lotul studiat în aria de sud a României [3].

Material și metode. Adenoamele hipofizare au fost prelevate postoperator în bază a 96 de cazuri. Fiind fixat în sol. formalină 4%, tamponată la pH 7.2 timp de 48-72 ore și incluse în parafină după tehnica histologică uzuală folosind sistemul automatizat și standardizat Thermo Shandon. Examinarea s-a efectuat cu ajutorul microscopului optic Nikon Eclipse 600, imaginile fiind preluate cu ajutorul camerei digitale Coolpix 950, Imagini JPEG. Conform recomandărilor WHO 10-2015 au fost descrise și analizate în mod autonom de către trei patologi experimentați. Dintre acestea, 10 cazuri conțin țesut hipofizar normal necesar pentru a compara aspectul microscopic al hipofizei normale cu cel al adenoamelor hipofizare. Analiza statistică s-a realizat software SPSS, versiunea 17 (testele Spearman, Kendall, Pearson).

Mijloace folosite: Markerii pentru receptorii la:

- STH (hormon somatotrof) - S-au utilizat anticorpi anti- GH (DakoCytomation, diluție 1: 400).
- PRL (prolactina)- S-au utilizat anticorpi anti-PRL (DakoCytomation, diluție 1: 250).
- TSH (hormon tireotrop) - S-au utilizat anticorpi anti- TSH (DakoCytomation, clona 0042, diluție 1: 50).
- FSH (hormon foliculostimulant)- S-au utilizat anticorpi anti- FSH (DakoCytomation, clona C10, diluție 1: 50).
- LH (hormon luteinizant) - S-au utilizat anticorpi anti- LH (DakoCytomation, clona C93, diluție 1: 50).
- ACTH (hormon adrenocorticotrof) - S-au utilizat anticorpi anti- ACTH (DakoCytomation, clona C93, diluție 1:5).

Rezultate. Caracterile citologice (acidofil, bazofil, cromofob și mixt) precum și pattern-ul de creștere (solid, papilar, trabecular, alveolar, fusiform) au fost corelate cu expresia fiecărui tip de hormon evaluat imunohistochimic. Cazurile au fost inițial grupate în funcție de tinctorialitatea celulelor adenomatoase, fără a fi luat în considerare pattern-ul de creștere. Corelațiile pe care le-am obținut au fost clasificate ca și corelații totale în cazul în care toți cei trei indici de corelație evaluați (Spearman, Kendal și Pearson) au avut valori semnificativ statistice, sau corelații parțiale când am înregistrat un indice de corelație semnificativ statistic pentru cel puțin unul din parametrii menționați. Conform programului automat SPSS version 17, de realizare a corelațiilor mai sus menționate, au fost considerați indici cu o valoare semnificativ statistică, coeficienții de corelație $p < 0.01$ pentru corelația de tip Pearson, și un $p < 0.05$ pentru indicii de corelație de tip Kendall și Spearman.

Adenoamele hipofizare acidofile, bazofile, cromofobe și mixte au fost evaluate în raport cu expresia imunohistochimică a hormonilor hipofizari. Adenoamele hipofizare de tip acidofil s-au corelat cu o expresie moderată și crescută a GH evaluate imunohistochimic ca fiind +2 și + 3. Pentru adenoamele hipofizare de tip acidofil, am obținut o corelație totală semnificativ statistică pentru toți indicii de corelație studiați. Indicele de corelație Pearson a avut o valoare de $P = 0,002$, similară cu cea pentru indicele de corelație Kendall. Am observat o corelație mult mai puternică între aspectul acidofil și secreția de STH pentru parametrul de corelație Spearman. Tabelele cu variabilele și corelațiile menționate sunt reprezentate în Fig. 1.

Corelația semnificativ statistică a GH cu tipul acidofil al adenoamelor hipofizare obținută anterior a sugerat existența unor posibile corelații directe sau inverse între expresia diferitelor tipuri hormonale

		Tip acidofil	GH			Tip acidofil	GH		
Tip acidofil	Pearson Correlation	1.000	-.400	Kendall's tau_b	Tip acidofil	Correlation Coefficient	1.000	-.353	
						Sig. (2-tailed)			.002
	Sig. (2-tailed)				GH	GH	Correlation Coefficient	-.353	1.000
							Sig. (2-tailed)		
N	60	60	Spearman's rho	Tip acidofil		Correlation Coefficient	1.000	-.404	
						Sig. (2-tailed)			.001
GH	Pearson Correlation	-.400		1.000	GH	GH	Correlation Coefficient	-.404	1.000
							Sig. (2-tailed)		
Sig. (2-tailed)		.002		N		60	60		
N	60	60							

Fig. 1. Evaluarea statistică a corelației Pearson (a), Kendall și Spearman (b) dintre tipul acidofil și expresia imunohistochimică a GH

exprimate în adenoamele hipofizare de tip acidofil. Pentru a putea defini aspectele hormonale corelate cu tipul histopatologic acidofil, am aplicat metodele statistice de corelație pentru GH evaluat în parte cu PRL, TSH, ACTH, FSH și LH.

Analiza expresiei GH în raport cu PRL a evidențiat o corelație directă, parțială semnificativ statistică între GH și PRL pentru tipul acidofil de adenoame hipofizare fiind înregistrat un $p = 0,032$ pentru indicele Pearson. Valoarea semnificativ statistică a acestei analize a demonstrat faptul că, pentru adenoamele hipofizare de tip acidofil există o suprapunere a expresiei GH și a PRL, ambii hormoni fiind evaluați imunohistochimic cu scor de +2 și +3 în majoritatea cazurilor. Evaluarea GH în raport cu TSH a înregistrat de o corelație inversă, semnificativ statistică, toți cei trei parametri de corelație având o valoare

a $p < 0.034$ (Fig.2a). Un alt aspect particular întâlnit în studiul expresiei hormonilor hipofizari în raport cu tipul histopatologic a fost reprezentat de co-expresia PRL cu ceilalți hormoni. Dacă pentru co-expresia GH PRL am obținut doar o corelație parțială, pentru asocierile de tip PRL-ACTH și PRL-FSH corelațiile au fost complete fiind semnificativ statistice pentru un $p = 0.002$ (Fig. 2b), respectiv $p = 0.040$. Nu s-au observat corelații semnificative pentru coexpresia PRL cu TSH și nici pentru PRL-LH. În schimb asocierea TSH-ACTH a fost cuantificată cu o semnificație mai mică de 0.01, aceasta fiind marcată de un $p = 0.036$.

Varianta cu celulele acidofile a adenoamelor hipofizare s-a corelat de asemenea cu expresia imunohistochimică a LH, corelația fiind totală, cu un $p = 0,002$.

Tipurile bazofil, cromofob și mixt nu s-au corelat semnificativ statistic cu expresia nici unuia din-

		GH	TSH			PRL	ACTH	
GH	Pearson Correlation	1.000	.387	PRL	Pearson Correlation	1.000	.751	
						Sig. (2-tailed)		
	Sig. (2-tailed)				ACTH		Sig. (2-tailed)	
N	30	30	ACTH	Pearson Correlation		.751	1.000	
						Sig. (2-tailed)		
TSH	Pearson Correlation	.387		1.000	N		30	30
						Sig. (2-tailed)		
Sig. (2-tailed)		.034						
N	30	30						

Fig. 2. Evaluarea statistică a corelației Pearson dintre tipul acidofil și co-expresia imunohistochimică a GH-TSH, respectiv, PRL-ACTH

		Tip acidofil	LH	
Tip acidofil	Pearson Correlation	1.000	.400	
	Sig. (2-tailed)		.002	
	N	60	60	
	LH	.400	1.000	
LH	Pearson Correlation	.400	1.000	
	Sig. (2-tailed)	.002		
	N	60	60	
	Tip acidofil	.400	1.000	
		Tip acidofil	LH	
Kendall's tau_b	Tip acidofil	Correlation Coefficient	1.000	.378
		Sig. (2-tailed)		.001
		N	60	60
	LH	.378	1.000	
Spearman's rho	Tip acidofil	Correlation Coefficient	1.000	.441
		Sig. (2-tailed)		.000
		N	60	60
	LH	.441	1.000	
Kendall's tau_b	Tip acidofil	Correlation Coefficient	1.000	.378
		Sig. (2-tailed)		.001
		N	60	60
	LH	.378	1.000	
Spearman's rho	Tip acidofil	Correlation Coefficient	1.000	.441
		Sig. (2-tailed)		.000
		N	60	60
	LH	.441	1.000	

Fig. 3. Evaluarea statistică a corelației Pearson (a), Kendall și Spearman (b) dintre tipul acidofil și expresia imunohistochimică a LH

tre hormonii evaluați imunohistochimic. Cu cea mai mare probabilitate, lipsa corelației dintre aceste tipuri histopatologice și profilul hormonal imunohistochimic s-ar putea datora numărului mic de cazuri înregistrate în aceste categorii.

Evaluarea corelației dintre pattern-ul de crește-

re asociat profilului hormonal a fost cel de-al doilea obiectiv al concordanței morfologie-imunohistochemie. Dintre pattern-urile de creștere menționate la capitolul de morfologie, s-au putut realiza corelații pentru tipurile solid, papilar și trabecular. Pentru tipul solid, singurul hormon care a prezentat un grad

		Tip solid	STH	
Kendall's tau_b	Tip solid	Correlation Coefficient	1.000	-.373
		Sig. (2-tailed)		.019
		N	30	30
	STH	Correlation Coefficient	-.373	1.000
Spearman's rho	Tip solid	Correlation Coefficient	1.000	-.421
		Sig. (2-tailed)		.020
		N	30	30
	STH	Correlation Coefficient	-.421	1.000
Spearman's rho	Tip solid	Correlation Coefficient	1.000	-.421
		Sig. (2-tailed)		.020
		N	30	30
	STH	Correlation Coefficient	-.421	1.000
Kendall's tau_b	Tip solid	Correlation Coefficient	1.000	-.373
		Sig. (2-tailed)		.019
		N	30	30
	STH	Correlation Coefficient	-.373	1.000
Spearman's rho	Tip solid	Correlation Coefficient	1.000	-.421
		Sig. (2-tailed)		.020
		N	30	30
	STH	Correlation Coefficient	-.421	1.000

Fig. 4. Evaluarea statistică a corelației Kendall și Spearman dintre tipul solid și expresia imunohistochimică a GH

mic de corelație a fost GH. Acesta s-a corelat parțial cu tipul solid de adenom hipofizar ($p=0.019$ pentru parametrul Kendall, și $p=0.020$ pentru parametrul Spearman, Fig. 4). Ceilalți hormoni au fost, de asemenea, evaluați dar nu s-a observat nici o corelație semnificativă statistică așa cum rezultă și din valorile p pentru fiecare tip hormonal, respectiv, PRL (0.266), TSH (0.478), ACTH (1), TSH (0.383), FSH (0.466) și LH (0.533).

Tipul papilar s-a corelat parțial cu expresia GH ($p=0,047$ pentru parametrul Kendall și Spearman dar nu și pentru Pearson). În schimb, analiza corelației dintre hormonii exprimați în adenoamele hipofizare cu pattern de creștere papilar a relevat predominanța a două asocieri pentru care s-a înregistrat o corelație completă, semnificativă statistică. Pattern-ul de creștere papilar a fost dominat de expresia în tandem, pe de o parte a asocierii GH-PRL pentru care s-a înregistrat o corelație semnificativă certificată de un $p=0.04$ și, pe de altă parte, de asocierea TSH-FSH pentru care p a avut o valoare de 0.01. Nici o altă asociere hormonală nu s-a dovedit a fi specifică pentru tipurile acidofil și papilar de adenoame hipofizare.

Concluzii:

1. Concordanța morfologie imunohistochimie prezintă un parametru util cu valoare orientativă pentru diagnostic. Heterogenitatea hormonilor secretați de adenoamele hipofizare, mai ales în cazul adenoamelor plurihormonale ar putea influența pattern-ul de creștere al acestor tumori.

2. Sunt foarte bine cunoscute efectele hormonilor secretați de adenohipofiză asupra receptorilor specifici din toate țesuturile organismului uman. În schimb, implicarea hormonilor hipofizari în patogenza adenoamelor hipofizare, respectiv acțiunile lor

autocrine și paracrine sunt puțin studiate. În prezent, cu excepția prolactinei care este cunoscută că induce și susține creșterea și proliferarea celulelor tumorale și a celulelor endoteliale din vasele de neoformație din adenoamele hipofizare, nici un alt hormon nu a fost dovedit că ar influența pattern-ul de creștere al tumorilor hipofizare sau selecția unui anumit tip celular. Incertitudinile care persistă referitor la posibilele corelații dintre aspectele citologice și morfologice acceptate pentru adenoamele hipofizare și profilul lor molecular au reprezentat pentru lucrarea de față o motivație puternică de a sumariza datele rezultate din asocierile morfoimunohistochemice pe care le-am observat în cadrul prezentului studiu.

Bibliografie

1. Monsalves E., Larjani S., Loyola Godoy B., Juraschka K., Carvalho F., Kucharczyk W., Kulkarni A., Mete O., Gentili F., Ezzat S., Zadeh G. *Growth patterns of pituitaryadenomas and histopathological correlates*. J Clin Endocrinol Metab. 2014 Apr; 99(4):1330-8.

2. Chanson P., Salenave S. *Diagnosis and treatment of pituitary adenomas*. Minerva Endocrinol. 2004 Dec;29(4):241-75.

3. Bălinișteanu B., Ceaușu R.A., Câmpeanu A.M., Baciș I., Băculescu N., Coculescu M., Raica M. *Conventional examination versus immunohistochemistry in the prediction of hormone profile of pituitary adenomas. An analysis on 142 cases*. Rom J Morphol Embryol. 2011;52 (3 Suppl):1041-5.

4. Ryosuke Mori, Naoko Inoshita, Junko Takahashi-Fujigasaki, Tatsuhiro Joki,¹ Hiroshi Nishioka, Toshiaki Abe, Takeshi Fujii, Shozo Yamada. *Clinicopathological Features of Growth Hormone-Producing Pituitary Adenomas in 242 Acromegaly Patients: Classification according to Hormone Production and Cytokeratin Distribution*. 2013, 1-8 ISRN Endocrinology