

Tipik ve Atipik Hipofiz Adenomlarında Hormon İmmünreaktivite Dağılımı

The Spectrum of Hormone Immunoreactivity in Typical and Atypical Pituitary Adenomas

Yeşim ERTAN, Banu SARSIK, Taner AKALIN

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR, TÜRKİYE
Department of Pathology, Ege University, Faculty of Medicine, İZMİR, TURKEY

ÖZ

Amaç: Hipofiz adenomu olgularımızın hormon immünreaktivite dağılımını ve atipik hipofiz adenomu tanı kriterlerinin tartışılmasını amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 2005-2008 yılları arasında Anabilim Dalımızda hipofiz adenomu tanısı alan 166 olgu dahil edildi. Olguların hematoksilen-eozin ve immünohistokimya uygulanan preparatları (ACTH, PRL, GH, TSH, FSH, LH, Ki-67 ve p53) tekrar gözden geçirildi. 10 büyük büyütme alanında ikinin üzerinde mitoz yanı sıra Ki-67 indeksi %3'ün üzerinde olan olgular atipik grupta ele alındı.

Bulgular: Histolojik olarak 159 olgu tipik hipofiz adenomu, 7 olgu atipik hipofiz adenomu idi. Tipik hipofiz adenomu olgularının 39'u GH, 19'u ACTH, 17'si prolaktin, 10'u FSH, 8'i LH ve biri TSH immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomuydu. On sekiz olgu multihormonal adenomdu. Hormon immünreaktivite göstermeyen 47 olgu bulunmaktaydı. Atipik hipofiz adenomlarının ikisi ACTH, biri GH immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomuydu. Dört olgu da hormon immünreaktivitesi göstermeyen hipofiz adenomuydu.

Tüm hipofiz adenomu olgularımızın 22'sinde nüks saptandı. Nüks eden olgularımızın 18'i tipik adenom, 4'ü atipik adenom idi.

Sonuç: Medikal tedaviye bağlı olarak nöropatoloji cerrahi materyali içinde prolaktin reaktivitesi gösteren hipofiz adenomlarının oranı düşmektedir. Atipik hipofiz adenomları, rekürrens mekanizmasını etkileyen tek faktör değildir ancak bu tümörler tipik hipofiz adenomları ile kıyaslandığında yüksek rekürrens oranına sahiptir ve biz bu lezyonların tanısında proliferasyon indeksinin temel yaklaşım olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Sözcükler: Hipofiz adenomu, Atipik hipofiz adenomu, Ki-67, p53 tümör baskılayıcı protein, Mitoz

ABSTRACT

Objective: We aimed to assess the spectrum of hormone immunoreactivity in our pituitary adenoma cases and discuss the diagnostic parameters of atypical pituitary adenomas.

Material and Methods: A total of 166 pituitary adenoma cases diagnosed from 2005 to 2008 in our department were included in the present study. Hematoxylin-eosin stained and immunohistochemistry performed slides (ACTH, PRL, GH, TSH, FSH, LH, Ki-67, and p53) were evaluated. Cases having more than two mitoses on 10 high power fields besides more than 3% Ki-67 index were accepted in the atypical group.

Results: Histologically, 159 cases were typical pituitary adenoma and 7 were atypical pituitary adenoma. Of the atypical pituitary adenoma cases, one case was ACTH, one GH and one both GH and prolactin hormone immunoreactive pituitary adenomas. Four cases were hormone immunonegative adenomas. Of the typical pituitary adenoma cases, 39 cases were GH, 19 ACTH, 17 prolactin, 10 FSH, 8 LH and one TSH immunoreactive pituitary adenomas. Forty-seven cases were hormone immunonegative adenomas. Twenty-two of the all pituitary adenoma cases had recurrence. Of these cases, 18 were typical adenoma and four were atypical adenoma.

Conclusion: The ratio of prolactin immunoreactive pituitary adenoma cases in the surgical material of neuropathology is decreasing due to medical therapy. Atypical pituitary adenomas are not the sole factor affecting the recurrence mechanism but these tumors have higher recurrence rate compared with typical pituitary adenomas and we think the proliferation index might be the principal approach in the diagnosis of these lesions.

Key Words: Pituitary adenoma, Atypical pituitary adenoma, Ki-67, p53 tumor suppressor protein, Mitosis

GİRİŞ

Tüm intrakraniyal tümörlerin %15'ini oluşturan hipofiz adenomları, meningiom ve gliomlardan sonra üçüncü sıklıkta görülmektedir (1). Görüntüleme yöntemleriyle insidental olarak %20, otopsi serilerinde ise %27 oranında saptanmaktadır (2,3). Adenohipofiz hücrelerinden oluşan hipofiz adenomları çoğunlukla benign tümörler olmakla birlikte perisellar invazyon ve operasyon sonrası rekürens görülen olgular da izlenmektedir (1). Tümör boyutu, invazyon ve cerrahi genişliği tümör nüksünü veya progresyonunu belirleyen önemli parametreler olarak belirtilmektedir (4). Tümör progresyonunu etkileyen histolojik parametreler üzerinde çalışılmış ancak bazı tümörler için önemli olan mitotik aktivite artışı ve pleomorfizm gibi parametrelerin hipofiz adenomlarında her zaman önemli olmadığı öne sürülmüştür (5-7).

2004 Dünya Sağlık Örgütü Endokrin Tümörleri Sınıflamasına göre hipofiz tümörleri adenom, atipik adenom ve karsinom olarak sınıflandırılmıştır (8). Belirgin mitotik aktivite, %3'ün üstünde Ki-67 proliferatif indeksi ve yaygın nükleer p53 protein pozitifliği gösteren olgular atipik hipofiz adenomu olarak tanımlanmaktadır (8). Adenomun kemik, sinir, damar, kavenöz sinüs gibi yapılara invazyonunun radyolojik, makroskopik (ameliyat sırasında) veya histolojik değerlendirmede ortaya konması durumunda invaziv hipofiz adenomundan bahsedilir (8). İnvaziv gelişim gösteren olguların bir kısmı atipik hipofiz adenomu bulguları gösterebilir.

Atipik hipofiz adenomları invaziv gelişim ve agresif klinik gidiş ile karakterli olduğundan, bu olguların nüks veya uzak metastaz açısından yakın klinik takibi yapılmalıdır .

Hücre siklusunun G1, S, G2 ve M fazlarında ekspres edilen proliferasyon ilişkili antijen olan Ki-67, hipofiz adenomlarında ilk kez 1987 yılında Landolt ve ark., (9) tarafından frozen örneklerinde çalışılmıştır. Literatürde hipofiz adenomlarında Ki-67 ile nüks veya agresif gidiş arasındaki ilişki ile ilgili tartışmalı sonuçlar ortaya konmuştur (10-13). Ki-67 proliferatif indeksinin bu tümörlerde büyüme kapasitesi ile ilişkili olduğunu ancak invaziv gidişe etkisi olmadığını savunan çalışmaların yanı sıra Ki-67 değerinin agresif klinik gidiş ve nüks ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da vardır.

Yapılan çalışmalarda, p53 protein ekspresyonunun hipofiz karsinomlarının %100'ünde (14), invaziv adenomlarının da %15-25'inde izlendiği vurgulanmaktadır (10,14). Çalışmalarda, p53 ekspresyonunun invaziv davranış ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (12). Ancak hipofiz adenomlarında p53 ekspresyonu ile nüks veya progresyon arasında bir ilişkinin olmadığı öne sürülmektedir (12,15).

Bu çalışmadaki amacımız, hipofiz adenomu olgularımızın hormon immünreaktivite dağılımının ve atipik hipofiz adenomu tanı kriterlerinin tartışılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Ocak 2005-Aralık 2008 tarihleri arasında Anabilim Dalımızda hipofiz adenomu tanısı alan 166 olgu dahil edildi. Bu olgulara ait toplam 181 hipofiz ameliyat materyali değerlendirildi.

Olguların hematoksilin-eozin ve immünohistokimya uygulanan preparatları (ACTH, PRL, GH, TSH, FSH, LH ve Ki-67) tekrar gözden geçirildi. Histolojik incelemede belirgin hücresel pleomorfizm gösteren veya mitotik aktivitesi olan veya Ki-67'si %3'den fazla olan olgularda immünohistokimyasal yöntemle p53 proteinin varlığı da araştırıldı. Belirgin mitotik aktivite ve %3'ün üzerinde Ki-67 proliferatif indeksi yanı sıra yaygın nükleer p53 pozitifliği ile karakterli hipofiz adenomları, 2004 Dünya Sağlık Örgütü Endokrin Sistem Tümörleri Sınıflaması kriterlerine göre atipik hipofiz adenomu olarak değerlendirildi (8). Bu çalışmada, 10 büyük büyütme alanında (BBA) ikinin üzerinde mitoz yanı sıra Ki-67 indeksi %3'ün üzerinde olan olgular atipik grupta ele alındı.

İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal yöntemle ACTH, PRL, GH, TSH, FSH, LH, p53 ve Ki-67'nin varlığını göstermek için %10'luk tamponlanmış formalinde tespit edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan 5 µm kalınlığında hazırlanan kesitler elektrostatik yüklü lamalar üzerine alındı. Lamalar "ultraView Universal DAB detection" sistem ve BenchMark XT boyama modülünde (Ventana, Tucson, AZ), ACTH (AH 26, Thermo), FSH (N1539, Dako), GH (A0570, Dako), LH (LH01, Neomarkers), PRL (PRL02, Neomarkers), TSH (0042, Dako) Ki67 (MIB-1, Dako) ve p53 (DO7, Dako) primer antikoları kullanılarak boyandı.

Sonuçların Değerlendirilmesi

ACTH, PRL, GH, TSH, FSH ve LH immünreaktivitesi değerlendirilirken sitoplazmik boyanan olgular pozitif kabul edildi. P53 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi için boyanmanın en yoğun olduğu bir alanda standart ışık mikroskopunda x400 büyütmede 1000 hücre sayıldı ve p53 pozitif hücrelerin yüzdesi, nükleer boyanma gösteren hücrelerin 100 hücreye oranı hesaplanarak bulundu ve %3'ün üzerinde güçlü nükleer boyanan olgular pozitif kabul edildi. Ki-67 pozitifliğinin değerlendirilmesi için boyanmanın en yoğun olduğu bir alanda x400 büyütmede 1000 hücre sayıldı ve Ki-67 pozitif hücrelerin yüzdesi,

nükleer boyanma gösteren hücrelerin 100 hücreye oranı hesaplanarak bulundu.

İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 'version' 15.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Bütün belirleyicilerin sayısal değerleri ve yüzdeleri frekans analizleri ile değerlendirildi.

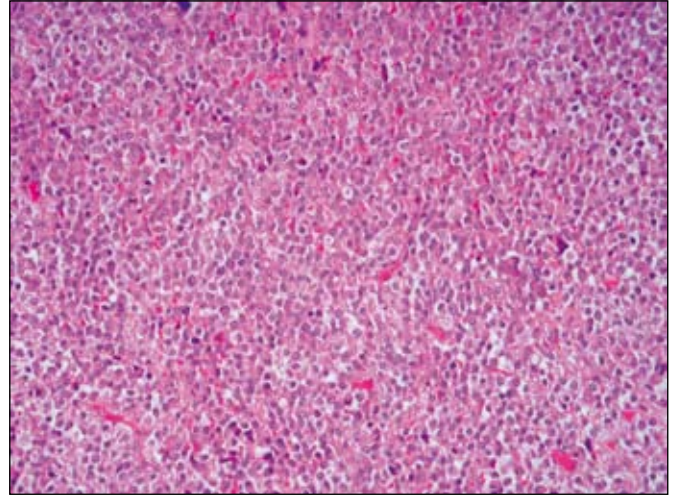
SONUÇLAR

Olgularımızın 81'i (%48,8) kadın, 85'i (%51,2) erkek olup, yaşları 5 ile 78 arasında değişmekteydi (ortalama 40,4). Histolojik olarak 159 olgu (%95,8) tipik hipofiz adenomu (Şekil 1), 7 olgu (%4,2) atipik hipofiz adenomu (Şekil 2) idi. Tipik hipofiz adenomu morfolojisindeki olgularımız immünohistokimyasal olarak sınıflandırıldığında 39 olgu (%24,5) growth hormon (GH), 19 olgu (%11,9) adrenokortikotrof hormon (ACTH), 17 olgu (%10,6) prolaktin (PRL), 10 olgu (%6,2) follikül stimulan hormon (FSH), 8 olgu (%5) luteinizan hormon (LH) ve 1 olgu (%0,6) tiroid stimulan hormon (TSH) immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomuydu. Hormon immünreaktivite göstermeyen 47 olgu tüm tipik adenom olgularımızın %29,5'ini oluşturmaktaydı. İki veya daha fazla hormon immünreaktivitesi gösteren 18 olgu (%11,3) bulunmaktaydı. Atipik hipofiz adenomlarının ikisi ACTH, biri GH immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomuydu. Dört olgu da hormon immünreaktivitesi göstermeyen hipofiz adenomuydu.

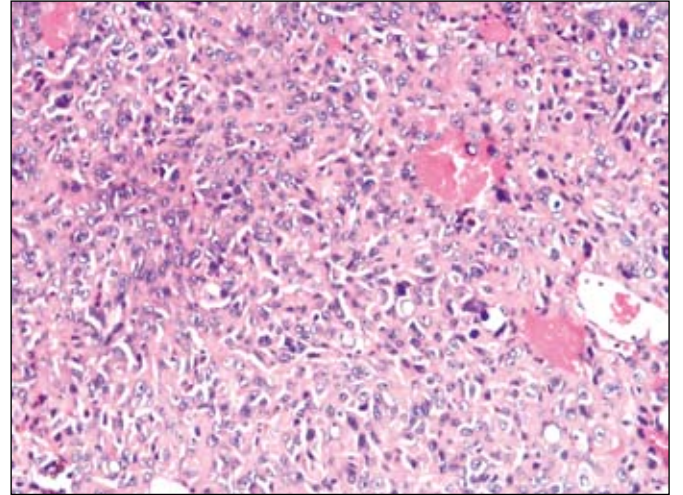
Ki-67 proliferatif indeksi %0,7 ile 12 arasında değişmekteydi (ortalama 1.8) (Şekil 3). Tipik hipofiz adenomu grubunda ele alınan olguların altısında Ki-67 proliferatif indeksi %3'ün üstünde saptanmış ancak eşlik eden mitotik aktivite olmadığı için bu olgular atipik grupta ele alınmamıştır.

p53 protein immünekspreyonu atipik hipofiz adenomu olgularımızın ikisinde (2/7) (%28,5) pozitif olup, bir olguda %5 ve diğer olguda %55 (Şekil 4) oranında pozitiflik izlendi.

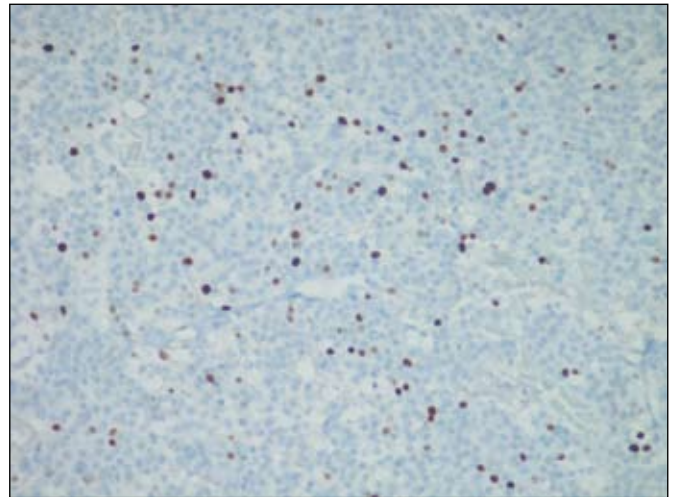
Tüm hipofiz adenomu olgularımızın 22'sinde (%13,2) ortalama 55 ay içinde nüks saptandı. Nüks eden olgularımızın 18'i tipik adenom, 4'ü atipik adenom idi. Tipik adenom olgularımızda nüks oranı (18/159) (%11,3) iken atipik adenom olgularımızda nüks oranı (4/7) (%57,1) idi. Nüks eden tipik adenom olgularının 5'i FSH ve/veya LH, 2'si GH, 2'si ACTH immünreaktivitesi gösterirken 9'unda hormon immünreaktivitesi saptanmadı. Nüks eden 4 atipik adenom olgusunun 3'ü hormon immünreaktivite göstermeyen ve 1'i de ACTH immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomuydu. Nüks eden 18 tipik adenom olgusunda Ki-67 proliferatif indeksi %3'ün altında idi.



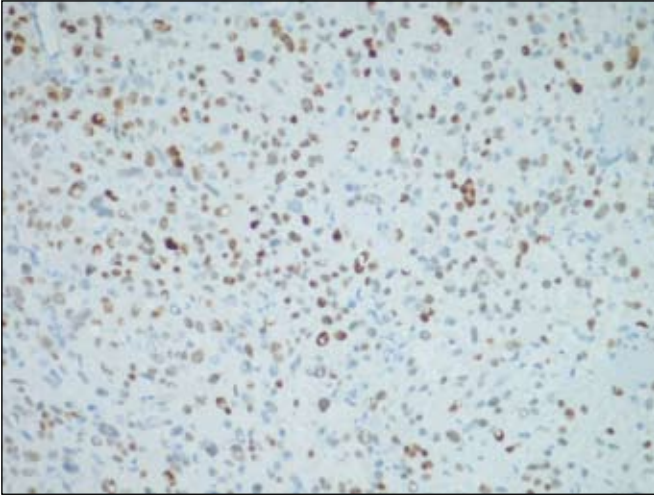
Şekil 1: Oval yuvarlak nükleuslu monoton hücre proliferasyonunun izlendiği tipik hipofiz adenomu (H&E, x200)



Şekil 2: Nükleolusu belirgin, oval yuvarlak pleomorfik hücrelerin ve mitotik figürlerin izlendiği atipik hipofiz adenomu (H&E, x200)



Şekil 3: Atipik hipofiz adenomunda nükleer Ki-67 pozitifliği (x200)



Şekil 4: Atipik hipofiz adenomunda nükleer p53 pozitifliği (x200)

TARTIŞMA

Hipofiz adenomları, hipofiz tümörleri arasında en sık görülen tümör grubudur. Hipofiz adenomları sıklıkla erişkinlerde özellikle 30-40 yaş arasında görülür. Çocukluk çağında nadir olup, bu yaş grubunda klinik bulgular tümörün hormon salgılamasına bağlıdır (16-19). Hipofiz adenomlarının kadınlarda erkeklere oranla daha sık görüldüğü bildirilmektedir (20). Bu çalışmada, hipofiz adenomlarının ortalama görülme yaşı 40,4 iken olgularımızın ikisi çocuktur. Çocuk olgularımızdan biri beş yaşında erkek, diğeri ise 16 yaşında kız idi. Görülme insidansı açısından cinsiyet farkı belirgin değildi.

Hipofiz adenomları, hormon salgılamasına göre klinik olarak hormon aktif veya hormon inaktif, tümör boyutuna göre mikroadenom veya makroadenom olarak sınıflandırılabilirler. Kaynaklarda tüm hipofiz adenomlarının yaklaşık %25-30'unu GH, %11-26'sını PRL, %10-15'ini ACTH, %1'ini TSH immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomları oluşturmaktadır (8). Hormon immünreaktivite göstermeyen hipofiz adenomları yaklaşık %25 oranında görülmektedir. Hipofiz adenomlarının sınıflamasında daha sensitif immünhistokimyasal tekniklerin kullanılması ile hormon immünreaktivite göstermeyen adenomların insidansında azalma olduğu belirtilmektedir (21,22). Çalışmamızda, en fazla görülen immünhistokimyasal hormon ekspresyonu GH (%24,5), ACTH (%11,9) ve PRL (%10,6) iken hormon immünreaktivite göstermeyen hipofiz adenomu oranı ise %29,5'i idi. Bu çalışmada, immünhistokimyasal hormon reaktivitesi dağılımı kaynaklarla paralellik göstermektedir.

Geçmişte, hipofiz adenomları arasında en sık görülen prolaktinomalar iken dopamin agonistleriyle tedavinin yaygınlaşmasıyla cerrahi serilerde bu tümörlerin görülme oranları düşmüştür (23). Bu çalışmada, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde PRL immünreaktivitesi gösteren hipofiz adenomları %10,6 ile tüm adenomlar arasında üçüncü sıklıkta görüldü.

Hipofiz adenomları büyüme oranı, invazyon ve nüks etme özellikleri bakımından farklılık gösterirler. Bu tümörlerin farklı biyolojik davranışlarını anlayabilmek için çeşitli histolojik parametreler ve immünhistokimyasal belirleyiciler üzerinde durulmuştur (8,24,25). Geçmiş yıllarda benign adenomlar ile karsinomlar arasındaki biyolojik olarak ara grupta yer alan hipofiz tümörleri invaziv tümörler olarak adlandırılmaktaydı (6). Dünya Sağlık Örgütü Endokrin Tümörleri 2004 Sınıflamasına göre belirgin mitotik aktivite, %3'ün üstünde Ki-67 proliferatif indeksi ve yaygın nükleer p53 protein pozitifliği gösteren olgular atipik hipofiz adenomu olarak tanımlanmıştır (8). Saeger ve ark., (26) 451 olgu içeren çalışmalarında 12 (%2,7) olgunun atipik adenom morfolojisinde olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda olgularımızın %4,2'si atipik adenom grubunda ele alınmıştır.

2004 Dünya Sağlık Örgütü Sınıflamasında mitotik aktivite ile ilgili kesin bir sınır değeri belirtilmemesi de belirgin mitotik aktivite artışının agresif klinik gidiş ile ilişkili olduğunu ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (5,27-29).

Literatürde hipofiz adenomlarında ortalama Ki-67 değerinin %0,9 ile %3,6 arasında değiştiğini gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır (13,28,30-34). Çalışmamızda, Ki-67 proliferatif indeksi %0,7 ile %12 arasında değişmekte olup, ortalama %1,8 idi. Hipofiz adenomlarında genellikle ortalama Ki-67 değerinin %4'ün altında olduğu ancak farklı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmasının doku fiksasyonu ve boyama protokolünün farklılığı yanı sıra elde veya otomatik cihazlarda boyama ve değerlendirilen alanın (en yoğun alan veya rastgele alanların ortalaması) farklılığına bağlı olabileceği düşünülmektedir (24).

İnvaziv adenomlarda Ki-67 proliferatif indeksinin önemini ortaya koyan çok sayıda çalışma vardır (11,28). İnvaziv olmayan adenomlara göre invaziv adenomlarda Ki-67 proliferatif indeksinin daha yüksek olduğu bir çok çalışmada belirtilmiştir. (9,24,28,31,33,34). Thapar ve ark., (28) çalışmalarında invaziv olmayan adenomlardan agresif tümörlerin ayrılmasında önemli olan Ki-67 sınır değerini %3 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmalardan farklı olarak Scheithauer ve ark., (1) çalışmalarındaki 61 invaziv adenom olgusunda Ki-67 proliferatif indeksinin ortalama %0,8

(%0-%7) olduğunu vurgulamışlar, bu farklılığı da Ki-67 sayma yöntemlerinin farklı olmasına bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir. Kaltsas ve ark., (25) da atipik adenomlarda Ki-67 proliferatif indeksinin %3'ün üzerinde olduğunu vurgulamışlardır.

Kaltsas ve ark., (25) 10 BBA' da ikinin üzerinde mitozun atipik veya agresif hipofiz adenomlarında görüldüğünü, mitotik aktivite artışı yanı sıra invazyon, hücresel atipi, nükleer pleomorfizm ve %3'ün üzerinde Ki-67 değerini atipik parametreler olduğunu tanımlamışlardır. Tipik adenom ve atipik adenomların sıklıkla p53 negatif olduklarını vurgulamışlardır. Pernicone ve ark., (35) ise hipofiz adenomlarında artmış hücresellik, nükleer atipi ve nekrozun prognoza etkisinin pek fazla olmadığını öne sürmüşlerdir. Nüks eden bazı hipofiz adenomlarının hatta metastaz yapan bazı hipofiz karsinomlarının, benign adenomlara benzer şekilde mitotik aktivitesi düşük uniform hücrelerden oluşabileceğini gözlemlemişlerdir (35,36).

Dünya Sağlık Örgütü'nün atipik hipofiz adenomu kriterlerinin günlük pratiğimizdeki değerinin tartışılmalı olduğu düşünülmektedir (15). Bunun en önemli nedeni, cerrahi sonrası nüks eden veya agresif gidiş gösteren olgular da dahil olmak üzere %3'ün üstünde Ki-67 proliferatif indeksi ve yaygın nükleer p53 protein pozitifliği gösteren olguların nadir görülmesidir (15). Ayrıca bu immünohistokimyasal bulguların yokluğunda da agresif davranış görülebildiği bildirilmektedir (10).

Bu çalışmada, 10 BBA' da ikiden fazla mitoz yanı sıra Ki-67 indeksi %3'ün üzerinde olan olgular atipik hipofiz adenomu olarak ele alınmıştır. Bu olgularda nüks oranı tipik hipofiz adenomlarına göre belirgin daha yüksektir. Atipik hipofiz adenomu kavramı nüks olasılığını ön görmede fonksiyonel anlamı olması nedeniyle önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği kriterler henüz geniş serilere dayalı yaygın kabul görmüş kriterler değildir. Bu çalışmada, atipik hipofiz adenomu olarak ele alınan 7 olgunun ikisinde p53 pozitifliği saptanmıştır. p53 pozitifliğinin ek bir bulgu olarak kullanılabileceğini ancak negatif olması durumunda da proliferasyon temelli yaklaşım ile "atipik hipofiz adenomu" teriminin kullanılabilceğini düşünüyoruz. Ancak "atipik hipofiz adenomu" kriterlerini karşılamayan çok sayıda nüks etmiş olgunun varlığı, kaynaklarda da belirtildiği gibi nüks mekanizmasındaki tek kriterin proliferasyon indeksinin olmadığı düşüncesini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak bu çalışmadaki bulgular p53 pozitifliği olmasa da proliferasyon indeksi (mitoz ve Ki-67 indeksi) yardımı ile "atipik hipofiz adenomu" teriminin kullanılabilceği şeklindedir. Proliferasyon indeksinin nüksü öngörmede

tek kriter olmadığı genel kabulünden yola çıkarak "atipik hipofiz adenomu" veya "nüks potansiyeli yüksek hipofiz adenomu" kavramı için ilave çalışmalar yapılmasına ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. **Scheithauer BW, Gaffey TA, Lloyd RV, Sebo TJ, Kovacs KT, Horvath E, Yapicier O, Young WF Jr, Meyer FB, Kuroki T, Riehle DL, Laws ER Jr:** Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas. *Neurosurgery* 2006, 59:341-353
2. **Elster AD:** Modern imaging of the pituitary. *Radiology* 1993, 187: 1-14
3. **Burrow GN, Wortzman G, Rewcastle NB, Holgate RC, Kovacs K:** Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. *N Engl J Med* 1981, 304:156-158
4. **Hsu DW, Hakim F, Biller BM, de la Monte S, Zervas NT, Klibanski A, Hedley-Whyte ET:** Significance of proliferating cell nuclear antigen index in predicting pituitary adenoma recurrence. *J Neurosurg* 1993, 78:753-761
5. **Thapar K, Yamada Y, Scheithauer B, Kovacs K, Yamada S, Stefaneanu L:** Assessment of mitotic activity in pituitary adenomas and carcinomas. *Endocr Pathol* 1996, 7:215-221
6. **Scheithauer BW, Kovacs KT, Laws ER Jr, Randall RV:** Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J Neurosurg* 1986, 65:733-744
7. **Sautner D, Saeger W:** Invasiveness of pituitary adenomas. *Pathol Res Pract* 1991, 187:632-636
8. **DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C (Eds):** World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Endocrine Organs. Lyon, IARC Pres, 2004, 10-35
9. **Landolt AM, Shibata T, Kleihues P:** Growth rate of human pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1987, 67:803-806
10. **Schreiber S, Saeger W, Lüdecke DK:** Proliferation markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas. *Pituitary* 1999, 1:213-220
11. **Turner HE, Wass JA:** Are markers of proliferation valuable in the histological assessment of pituitary tumours? *Pituitary* 1999, 1:147-151
12. **Hentschel SJ, McCutcheon E, Moore W, Durity FA:** P53 and MIB-1 immunohistochemistry as predictors of the clinical behavior of nonfunctioning pituitary adenomas. *Can J Neurol Sci* 2003, 30:215-219
13. **Honegger J, Prettin C, Feuerhake F, Petrick M, Schulte-Mönting J, Reincke M:** Expression of Ki-67 antigen in nonfunctioning pituitary adenomas: correlation with growth velocity and invasiveness. *J Neurosurg* 2003, 99:674-679
14. **Thapar K, Scheithauer BW, Kovacs K, Pernicone PJ, Laws ER Jr:** p53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fractions. *Neurosurgery* 1996, 38:765-771
15. **Gejman R, Swearingen B, Hedley-Whyte ET:** Role of Ki-67 proliferation index and p53 expression in predicting progression of pituitary adenomas. *Hum Pathol* 2008, 39:758-766
16. **Colao A, Loche S, Cappa M, Di Sarno A, Landi ML, Sarnacchiaro F, Faccioli G, Lombardi G:** Prolactinomas in children and adolescents. Clinical presentation and long-term follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 1998, 83:2777-2780

17. **Kane LA, Leinung MC, Scheithauer BW, Bergstrahl EJ, Laws ER Jr, Groover RV, Kovacs K, Horvath E, Zimmerman D:** Pituitary adenomas in childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, 79:1135-1140
18. **Kunwar S, Wilson CB:** Pediatric pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, 84:4385-4389
19. **Partington MD, Davis DH, Laws ER Jr, Scheithauer BW:** Pituitary adenomas in childhood and adolescence. Results of transsphenoidal surgery. *J Neurosurg* 1994, 80:209-216
20. **Pizarro CB, Oliveira MC, Coutinho LB, Ferreira NP:** Measurement of Ki-67 antigen in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. *Braz J Med Biol Res* 2004, 37:235-243
21. **Schmid M, Münscher A, Saeger W, Schreiber S, Lüdecke DK:** Pituitary hormone mRNA in null cell adenomas and oncocytomas by in situ hybridization comparison with immunohistochemical and clinical data. *Pathol Res Pract* 2001, 197:663-669
22. **Yamada S, Kovacs K, Horvath E, Aiba T:** Morphological study of clinically nonsecreting pituitary adenomas in patients under 40 years of age. *J Neurosurg* 1991, 75:902-905
23. **Terada T, Kovacs K, Stefaneanu L, Horvath E:** Incidence, pathology, and recurrence of pituitary adenomas: study of 647 unselected surgical cases. *Endocr Pathol* 1995, 6:301-310
24. **Wolfsberger S, Wunderer J, Zachenhofer I, Czech T, Böcher-Schwarz HG, Hainfellner J, Knosp E:** Expression of cell proliferation markers in pituitary adenomas--correlation and clinical relevance of MIB-1 and anti-topoisomerase-IIalpha. *Acta Neurochir* 2004, 146:831-839
25. **Kaltsas GA, Nomikos P, Kontogeorgos G, Buchfelder M, Grossman AB:** Clinical review: Diagnosis and management of pituitary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90:3089-3099
26. **Saeger W, Lüdecke DK, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe HJ, Petersenn S:** Pathohistological classification of pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tumor Registry. *Eur J Endocrinol* 2007, 156:203-216
27. **Gaffey TA, Scheithauer BW, Lloyd RV, Burger PC, Robbins P, Fereidooni F, Horvath E, Kovacs K, Kuroki T, Young WF Jr, Sebo TJ, Riehle DL, Belzberg AJ:** Corticotroph carcinoma of the pituitary: a clinicopathological study. Report of four cases. *J Neurosurg* 2002, 96:352-360
28. **Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ, Murray D, Laws ER Jr:** Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996, 38:99-107
29. **Ironsides JW:** Best Practice No 172: Pituitary gland pathology. *J Clin Pathol* 2003, 56:561-568
30. **Abe T, Sanno N, Osamura YR, Matsumoto K:** Proliferative potential in pituitary adenomas: measurement by monoclonal antibody MIB-1. *Acta Neurochir* 1997, 139:613-618
31. **Jaffrain-Rea ML, Di Stefano D, Minniti G, Esposito V, Bultrini A, Ferretti E, Santoro A, Faticanti Scucchi L, Gulino A, Cantore G:** A critical reappraisal of MIB-1 labelling index significance in a large series of pituitary tumours: secreting versus non-secreting adenomas. *Endocr Relat Cancer* 2002,9:103-113
32. **Losa M, Franzin A, Mangili F, Terreni MR, Barzaghi R, Veglia F, Mortini P, Giovanelli M:** Proliferation index of nonfunctioning pituitary adenomas: correlations with clinical characteristics and long-term follow-up results. *Neurosurgery* 2000, 47:1313-1319
33. **Mastronardi L, Guiducci A, Spera C, Puzilli F, Liberati F, Maira G:** Ki-67 labelling index and invasiveness among anterior pituitary adenomas: analysis of 103 cases using the MIB-1 monoclonal antibody. *J Clin Pathol* 1999, 52:107-111
34. **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, 141:187-192
35. **Pernicone PJ, Scheithauer BW, Sebo TJ, Kovacs KT, Horvath E, Young WF Jr, Lloyd RV, Davis DH, Guthrie BL, Schoene WC:** Pituitary carcinoma: a clinicopathologic study of 15 cases. *Cancer* 1997, 79:804-812
36. **Roncaroli F, Scheithauer BW, Young WF, Horvath E, Kovacs K, Kros JM, Al-Sarraj S, Lloyd RV, Faustini-Fustini M:** Silent corticotroph carcinoma of the adenohypophysis: a report of five cases. *Am J Surg Pathol* 2003, 27:477-486