

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JULIANO COELHO DE OLIVEIRA ZAKIR

**ESTUDO OBSERVACIONAL E RETROSPECTIVO DE MACROADENOMAS
HIPOFISÁRIOS AGRESSIVOS E SUA RELAÇÃO COM A IMUNOREATIVIDADE
TISSULAR PARA MARCADORES DE PROLIFERAÇÃO CELULAR**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Ansaneli Naves

Brasília

2016

JULIANO COELHO DE OLIVEIRA ZAKIR

**ESTUDO OBSERVACIONAL E RETROSPECTIVO DE MACROADENOMAS
HIPOFISÁRIOS AGRESSIVOS E SUA RELAÇÃO COM A IMUNOREATIVIDADE
TISSULAR PARA MARCADORES DE PROLIFERAÇÃO CELULAR**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 31 de Outubro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciana Ansaneli Naves (presidente)

Universidade de Brasília - UnB

Prof. Dr. Bernardo Liberman

Universidade de São Paulo – USP

Prof. Dra. Nina Rosa de Castro Musolino

Universidade de São Paulo – USP

Prof. Dra. Adriana Lofrano Alves Porto

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Augusto César Florêncio Costa

Universidade de Brasília - UnB

RESUMO

A grande maioria dos tumores hipofisários são benignos, no entanto, alguns adenomas podem apresentar comportamento agressivo. Ainda há controvérsias sobre fatores que possam prever o comportamento biológico desses tumores específicos. Este estudo avaliou potenciais marcadores de invasão e proliferação em comparação com os sistemas de classificação vigentes e parâmetros epidemiogeográficos. Foram incluídos no presente estudo 50 pacientes submetidos, previamente, a tratamento cirúrgico, por tumores hipofisários maiores que 30 mm, com tempo médio de seguimento pós-operatório de $15,2 \pm 4,8$ anos. Parâmetros anatômicos, como invasão e extensão para estruturas adjacentes, e recrescimento/recorrência tumoral foram avaliados por meio de ressonância nuclear magnética de sela túrcica. Três biomarcadores teciduais de proliferação foram analisados: p53, Ki-67, e c-erbB2. Os tumores foram classificados de acordo com uma combinação de características histológicas e radiológicas, variando de não-invasivos e não-proliferativos (grau 1A) até invasivo-proliferativos (grau 2B). Os tumores classificados como graus 2A e 2B representaram 42% e 52% da amostra, respectivamente. Ki-67 (p-valor = 0,23) e c-erbB2 (p-valor = 0,71) não mostraram relação significativa com o *status* de progressão tumoral. O biomarcador p53 (p-valor = 0,003), invasão para-selar (p-valor = 0,03), e a classificação clínico-patológica, grau 2B (p-valor = 0,01), estiveram associados com o desfecho clínico desfavorável. Invasão para-selar prevalece como forte fator preditivo de recorrência tumoral. Extensão supra-selar avançada deve ser considerada como parâmetro adicional de invasão e pode ter impacto no prognóstico. Não houve fatores ambientais ou agrupamentos geográficos associados ao comportamento evolutivo tumoral.

Palavras-chaves: Adenoma hipofisário agressivo · Marcadores tumorais · Classificação · Sistemas de informações geográficas

ABSTRACT

Although some pituitary adenomas may have an aggressive behavior, the vast majority are benign. There are still controversies about predictive factors regarding the biological behavior of these particular tumors. This study evaluated potential markers of invasion and proliferation compared to current classification patterns and epidemiogeographical parameters. The study included 50 patients, operated on for tumors greater than 30 mm, with a mean postoperative follow-up of 15.2 ± 4.8 years. Pituitary magnetic resonance was used to evaluate regrowth/recurrence, invasion, and extension to adjacent tissue. Three tissue proliferation biomarkers were analyzed: p53, Ki-67, and c-erbB2. Tumors were classified according to a combination of histological and radiological features, ranging from noninvasive and nonproliferative (grade 1A) to invasive-proliferative (grade 2B). Tumors grades 2A and 2B represented 42% and 52%, respectively. Ki-67 (p-value = 0.23) and c-erbB2 (p-value = 0.71) had no significant relation to tumor progression status. The biomarker p53 (p-value = 0.003), parasellar invasion (p-value = 0.03), and clinicopathological classification, grade 2B (p-value = 0.01), were associated with worse clinical outcome. Parasellar invasion prevails as strong predictive factor of tumor recurrence. Severe suprasellar extension should be considered as additional invasion parameter and could impact prognosis. No environmental factors or geographical cluster were associated with tumor behavior.

Keywords: Aggressive pituitary adenoma · Tumor markers · Classification · Geographic information systems

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sistema de classificação de Hardy	19
Figura 2	Sistema de classificação de Knosp	20
Figura 3	Distribuição de pacientes por Unidades da Federação	56
Figura 4	Distribuição geográfica dos pacientes no Distrito Federal de acordo com volume tumoral inicial	58
Figura 5	Distribuição geográfica dos pacientes no Distrito Federal de acordo com volume tumoral inicial de acordo com a classificação de Jenks	59
Figura 6	Distribuição geográfica dos pacientes, em zonas-tampões, de acordo com classificação clínico-patológica	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação clínico-patológica de adenomas hipofisários	38
Tabela 2	Características gerais dos pacientes ao diagnóstico	41
Tabela 3	Caracterização radiológica e imunohistoquímica dos tumores ao diagnóstico	43
Tabela 4	Avaliação dos marcadores de proliferação tumoral p53, Ki-67 e c-erbB2 em relação aos parâmetros clínicos e radiológicos	46
Tabela 5	Características clínicas e radiológicas e intervenções terapêuticas	48
Tabela 6	Características imunohistoquímicas, classificação tumoral e intervenções terapêuticas	50
Tabela 7	Características clínicas e radiológicas e evolução tumoral	52
Tabela 8	Características imunohistoquímicas, classificação e evolução tumoral ...	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Tipos histológicos de adenomas hipofisários associados a agressividade tumoral	22
Quadro 2	Classificação clínico-patológica de adenomas hipofisários	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH – Hormônio Adrenocorticotrófico

AIP – Proteína de Interação do Receptor Aryl-Hidrocarbono

CDK – Proteína Quinase Ciclina-Dependente

CEP – Código de Endereçamento Postal

CRH – Hormônio Liberador de Corticotrofina

DAB – Diaminobenzidina

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

DP – Desvio-Padrão

EGFR – Receptor para Fator de Crescimento Endotelial

EGFR2/erbB2 – Receptor para Fator de Crescimento Endotelial – tipo 2

ESRI – *Environmental Systems Research Institute*

FGF – Fator de Crescimento de Fibroblastos

FGFR4 – Receptor para Fator de Crescimento de Fibroblastos – tipo 4

FIPA – Adenoma Hipofisário Familiar Isolado

FSH – Hormônio Folículo-Estimulante

GH – Hormônio do Crescimento

GHRH – Hormônio Liberador do Hormônio do Crescimento

GIS / SIG – Sistemas de Informações Geográficas

HUB – Hospital Universitário de Brasília

IGF-1 – Fator de Crescimento Insulina-Símile – tipo 1

LH – Hormônio Luteinizante

MGMT – 6-O-Metilguanina-DNA-Metiltransferase

MMP – *Matrix Metalloproteinase*

mTOR – *Mammalian Target of Rapamycin*

NEM1 – Neoplasia Endócrina Múltipla – tipo 1

OMS – Organização Mundial de Saúde

PKA – Proteína Quinase A

PRKAR1A – Subunidade Regulatória da Proteína Quinase A

PRL – Prolactina

PTTG – *Pituitary Tumor Transforming Gene*

RNA – Ácido Ribonucléico

RNM – Ressonância Nuclear Magnética

TGF – Fator de Crescimento Tumoral

TSH – Hormônio Tireotrófico

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

X-LAG – Acrogigantismo ligado ao cromossomo X

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Conceitos Gerais.....	13
1.2 Dados Epidemiológicos.....	13
1.3 Fisiopatologia	14
1.4 Síndromes Clínicas: casos esporádicos e familiares	16
1.5 Classificação	18
1.5.1 Classificação Anatômica	18
1.5.2 Classificação Patológica.....	21
1.5.2.1 Marcadores de Proliferação Celular	23
1.5.3 Classificação Prognóstica	26
1.6 Modalidades Terapêuticas	28
1.7 Sistemas de Informações Geográficas (SIGs)	31
1.7.1 Conceito	31
1.7.2 Utilização dos SIGs na análise de doenças	31
1.7.3 Utilização dos SIGs em Endocrinologia.....	32
2. RELEVÂNCIA DO ESTUDO	33
3. OBJETIVOS.....	34
3.1 Objetivo Principal	34
3.2 Objetivos Secundários.....	34
4. PACIENTES E MÉTODOS	35
4.1 Local do Estudo.....	35
4.2 Tipo do Estudo	35
4.3 Seleção de Pacientes.....	35
4.3.1 Critérios de Inclusão.....	35
4.3.2 Critérios de Exclusão.....	35
4.4 Procedimentos Técnicos	36

4.4.1 Avaliação Geral	36
4.4.2 Avaliação Radiológica	36
4.4.3 Avaliação Imunohistoquímica.....	37
4.4.4 Avaliação Clínico-Patológica	37
4.4.5 Sistemas de Informações Geográficas.....	38
4.5 Procedimentos Analíticos	39
4.6 Procedimentos Éticos.....	40
5. RESULTADOS	41
5.1 Características Gerais	41
5.2 Características Radiológicas e Imunohistoquímicas	42
5.3 Marcadores de Proliferação	44
5.4 Modalidades Terapêuticas	47
5.5 Impacto Prognóstico.....	51
5.6 Aplicação dos Sistemas de Informações Geográficas	56
6. DISCUSSÃO	62
7. CONCLUSÃO	68
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
9. ANEXOS	90
ANEXO 1 Interpretação de análise imunohistoquímica dos adenomas hipofisários	90
ANEXO 1.1 Anticorpos, clones e diluições para avaliação histológica.....	90
ANEXO 1.2 Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a secreção hormonal	91
ANEXO 1.3 Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a presença dos marcadores tumorais p53 e Ki-67	91
ANEXO 1.4 Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a presença do marcador tumoral c-erbB2.....	92

10. PUBLICAÇÕES CORRELATAS 93

Zakir JC, Casulari LA, Rosa JW, Rosa JW, de Mello PA, de Magalhães AV, Naves LA. Prognostic Value of Invasion, Markers of Proliferation, and Classification of Giant Pituitary Tumors, in a Georeferred Cohort in Brazil of 50 Patients, with a Long-Term Postoperative Follow-Up. Int J Endocrinol. 2016.... **93**

Naves LA, Daly AF, Dias LA, Yuan B, **Zakir JC**, Barra GB, Palmeira L, Villa C, Trivellin G, Júnior AJ, Neto FF, Liu P, Pellegata NS, Stratakis CA, Lupski JR, Beckers A. Aggressive tumor growth and clinical evolution in a patient with X-linked acro-gigantism syndrome. Endocrine. 2016 **109**

Naves LA, **Zakir JCO**, Vilar L. Adenomas hipofisários familiares: investigação clínica e laboratorial. In: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia; Czepielewski MA, Meirelles R, Carvalho GA, organizadores. PROENDÓCRINO Programa de Atualização em Endocrinologia e Metabologia: Ciclo 7. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2016. **119**

1 INTRODUÇÃO

1.1 Conceitos Gerais

Adenomas hipofisários são tumores monoclonais originários de células adenohipofisárias, representam 10-15% de todos tumores intracranianos e muitas vezes são subdiagnosticados.^{1,2} Geralmente benignos, tais tumores são associados a sinais e sintomas relacionados ao excesso ou à redução da produção hormonal, assim como aos efeitos compressivos sobre estruturas adjacentes à hipófise. São classificados como clinicamente funcionantes e não-funcionantes, de acordo com sua capacidade de síntese hormonal.

Os adenomas hipofisários podem apresentar durante seu crescimento, sinais de infiltração, destruição e ocupação dos tecidos adjacentes. Nesse caso, são chamados de tumores hipofisários invasivos, termo proposto primeiramente por Jefferson^{3,4} que os considerava lesões malignas do ponto de vista local.

Entretanto, não há ainda clara definição de adenomas hipofisários agressivos. Alguns autores sugerem que são tumores que apresentam, além de importante invasão de estruturas adjacentes e grandes volumes, crescimento acelerado, recorrência e resistência ao tratamento multimodal (cirúrgico, radioterápico e farmacológico).⁵⁻⁸

1.2 Dados Epidemiológicos

A verdadeira frequência dos tumores hipofisários na população geral não é bem estabelecida, possivelmente pela diversidade dos sintomas endócrinos e não-endócrinos, que torna complexo o diagnóstico. Além disso, a ausência de um banco de dados unificado para a notificação dos casos torna os dados discrepantes mundialmente. Estudo de metanálise publicado por Ezzat et al., avaliou séries radiológicas e de necrópsia, e evidenciou prevalência de 16,9% na população geral.⁹ Outros trabalhos recentes apontam para prevalência de até 20% na população geral.^{10,11} Um estudo populacional da cidade de Liège, na Bélgica, demonstrou que a prevalência do tumor hipofisário que traz repercussões clinicamente relevantes à saúde do paciente é de 1:1064 indivíduos, 3-5 vezes superior à previamente estimada.¹² No Brasil, o único estudo que avaliou a prevalência de tumores

hipofisários usando técnica de georeferenciamento, descreveu a distribuição geográfica desses pacientes no Distrito Federal.¹³

A grande maioria dos tumores hipofisários é benigna. Carcinomas hipofisários representam menos de 1% dos casos^{14, 15} e são definidos como lesões de comportamento maligno que apresentam disseminação metastática sistêmica e/ou cérebro-espinhal. Contudo, uma parcela significativa (30-45%) das neoplasias hipofisárias classificadas como benignas invadem estruturas para, infra e supra-selares^{16,17} e algumas apresentam capacidade altamente proliferativa e comportamento clinicamente agressivo^{5-7,18}, este último subtipo, porém, ainda sem prevalência definida.

1.3 Fisiopatologia

A tumorigênese requer duas etapas sobrepostas: iniciação e promoção.¹⁹ A formação de adenomas hipofisários pode resultar de um defeito genético intrínseco herdado ou adquirido ou de alterações epigenéticas que representam a fase de iniciação.¹⁰ Na fase de promoção, estão envolvidos alterações genéticas adicionais, fatores de crescimento e fatores ambientais. Todos esses defeitos levam a expansão monoclonal a partir de uma única célula modificada.²⁰ Vários genes e proteínas regulatórias do ciclo celular têm sido implicados no mecanismo central desse processo por ativação dos oncogenes ou inativação dos genes supressores tumorais, ocorrendo independentemente ou em associação.¹¹

Os oncogenes, que apresentam ganho de função após ocorrência de mutação, em geral, afetam as vias de transdução de sinal e levam a ativação prolongada da mesma. Essas mutações são mais comumente dominantes, com somente um alelo mutado, suficiente para a indução do fenótipo. A mutação genética mais frequente em adenomas hipofisários esporádicos é a mutação ativadora do gene *GNAS* que codifica a subunidade α da proteína G. Esse defeito, também chamado de mutação *gsp*, leva a hipersecreção sustentada de GH e proliferação celular e pode estar presente em mais de 40% dos adenomas secretores de GH.^{21,22} Mutações no gene *H-ras* foram descritas em alguns casos de prolactinomas invasivos e carcinomas hipofisários.²³⁻²⁵

Outro mecanismo descrito, consiste na perda de função dos genes supressores tumorais após mutação em ambos alelos, o que pode induzir crescimento celular tumoral.²⁶ O gene do retinoblastoma foi o primeiro gene supressor tumoral descrito. A metilação do seu promotor foi descrita no processo de tumorigênese hipofisária humana.²⁷ Regiões do genoma tipicamente deletadas nos adenomas hipofisários compreendem ambos os braços curto e longo do cromossomo 11.²⁸

Vários modelos animais demonstraram que reguladores do ciclo celular inativados ou hiperexpressos são suficientes para iniciar o processo de formação tumoral hipofisário.^{29,30} Ciclinas e proteínas quinase dependentes de ciclina estimuladoras (CDK) promovem iniciação do ciclo celular por fosforilação e inativam a proteína codificada pelo gene retinoblastoma, conferindo-lhes a capacidade de formação tumoral. Foi demonstrado haver hiperexpressão em diferentes tipos de adenomas hipofisários.³¹ Duas famílias de inibidores de CDK – INK4a/ARF (p16, p15 e p18) e cip/kip (p21, p27 e p57) – normalmente agem como supressores tumorais regulando negativamente a progressão de fases no ciclo celular. A redução na codificação dessas proteínas pode levar a formação de neoplasias hipofisárias.³²⁻³⁴ Recente publicação³⁵, inclusive, faz alusão ao aumento de susceptibilidade especificamente a corticotropinomas esporádicos diante da presença de polimorfismo do gene CDKN1B (p27).

Outro regulador do ciclo celular que exhibe propriedades oncogênicas é codificado pelo PTTG (*Pituitary Tumor Transforming Gene*), que estimula a produção de FGF (Fator de Crescimento de Fibroblastos) e angiogênese.³⁶⁻³⁸ Estudos demonstraram que a expressão de PTTG é maior em somatotropinomas e adenomas invasivos.^{39, 40}

Os fatores de crescimento são essenciais na regulação do crescimento celular hipofisário e da produção hormonal normal.⁴¹ O TGF- α (Fator de Crescimento Tumoral) é uma proteína mitogênica que parece desempenhar papel na tumorigênese específica dos prolactinomas.⁴² Foi demonstrado que uma isoforma alterada do FGF estava implicada no processo de formação neoplásica hipofisária.⁴³

Os fatores de transcrição são extremamente importantes nos estágios de diferenciação das células hipofisárias, porém podem ter expressão alterada nos tumores hipofisários. Em algumas ocasiões, podem estar modificadas as respostas

celulares específicas a estímulos normais como GHRH, CRH, dopamina e estrógeno podendo levar ao desenvolvimento tumoral.⁴⁴⁻⁴⁷

MicroRNAs são pequenos RNAs não-codificadores que estão envolvidos na regulação pós-transcrição da expressão gênica e translação e degradação de mRNA.⁴⁸ MicroRNAs estão envolvidos na regulação de alguns genes associados com a patogênese de adenomas hipofisários.⁴⁹ Vários distintos microRNAs estão expressos diferentemente nos adenomas hipofisários^{50,51}, mas o mecanismo exato de suas ações continua obscuro.

1.4 Síndromes Clínicas: casos esporádicos e familiares

A grande maioria, aproximadamente 95%, dos tumores hipofisários são esporádicos^{52,53}, porém podem surgir como componentes de síndromes neoplásicas familiares.⁵⁴ A apresentação clínica relaciona-se ao tipo de célula adenohipofisária envolvida e sua capacidade secretória.

A Neoplasia Endócrina Múltipla – tipo 1 é uma síndrome autossômica dominante com alta penetrância causada por mutações inativadoras do gene NEM1, localizado no cromossomo 11q13. A síndrome leva ao desenvolvimento seletivo de neoplasias de origens neuroendócrinas, como a hipofisária e a gastroenteropancreática e hiperplasia paratireoideana.⁵⁵ Os adenomas hipofisários podem ser clinicamente não-funcionantes e hipersecretores, sendo mais comuns os prolactinomas e, geralmente, apresentando-se como macroadenomas.⁵⁶

Em alguns pacientes com fenótipo semelhante a Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1 foi identificada uma mutação na linhagem germinativa do inibidor do ciclo celular p27 (gene CDKN1B)^{57,58}, sem, no entanto, apresentarem mutações no gene NEM1. Essa entidade clínica distinta foi denominada Neoplasia Endócrina Múltipla – tipo 4 que pode ter como componentes mais frequentes somatotropinomas e corticotropinomas associados a hiperparatireoidismo primário, angioliipoma renal, câncer testicular e tumor carcinóide. Estão sendo identificadas mais mutações inibidoras de CDK e fenótipos correlatos dessa síndrome devem ser mais bem definidos no futuro.⁵⁹

Ademais, sabe-se que a transcrição do gene CDKN1B (p27) é regulada pelo produto do gene NEM1, sugerindo que haja uma via comum na tumorigênese

endócrina. Assim, além aumentar a predisposição a Neoplasia Endócrina Múltipla – tipo 4, polimorfismos genéticos de p27 podem alterar o fenótipo de doença em pacientes já com presença de mutação do gene NEM1, incorrendo principalmente em multiplicidade tumoral glandular.⁶⁰

Complexo de Carney é uma síndrome de herança autossômica dominante caracterizada pela associação de mixomas, schwannomas, e hiperatividade endócrina, como hiperplasia adrenal/testicular e anormalidades hipofisárias, que podem aparecer em mais de 75% dos casos.^{61,62} Tais lesões hipofisárias podem consistir em hiperplasia multifocal ou dar origem a adenomas que secretam sobretudo prolactina e hormônio do crescimento. Relacionam-se a mutações no gene (cromossomo 17q22-24) da subunidade regulatória da proteína quinase A (*PRKAR1A*) em 60% dos casos⁶³ que leva a aumento da atividade da PKA.

A Síndrome de McCune-Albright é causada pelo mosaicismo da mutação *gsp*. Tal desordem é caracterizada por displasia fibrosa poliostótica, lesões cutâneas pigmentadas e hiperatividade de glândulas endócrinas. Secreção autônoma de GH é encontrada em aproximadamente 20% dos pacientes.⁶⁴

O quadro clínico observado em pacientes que possuem mais de dois casos de adenomas hipofisários na família, sem a presença de outras endocrinopatias associadas e sem mutações identificáveis nos genes da NEM-1, do PRKAR1A e do receptor do GHRH foi denominado FIPA (*Familial Isolated Pituitary Adenomas / Adenomas Hipofisários Familiares Isolados*).^{65,66} Os Adenomas Hipofisários Familiares Isolados apresentam prevalência maior entre as mulheres, a idade de diagnóstico é precoce e 74,6% dos casos ocorrem em parentes de primeiro e segundo graus. Os macroadenomas são mais comuns, com extensão supra e paraselar.⁶⁷ Os FIPA podem apresentar um fenótipo homogêneo, segundo secreção hormonal, quando apresentam-se apenas como um tipo de adenoma hipofisário, ou heterogêneo, com múltiplos tipos de adenomas entre os familiares acometidos. Os prolactinomas e os somatotropinomas são os mais comuns em FIPA de apresentação homogênea e os adenomas clinicamente não-funcionantes predominam quando trata-se de FIPA de apresentação heterogênea.^{52,67} Mutações germinativas inativadoras no gene AIP predisõem a adenomas hipofisários familiares.^{52,65,68-70} Em famílias com mutações no gene AIP diagnosticadas, a penetrância da doença hipofisária é de

aproximadamente 30%.⁷¹ Algumas famílias com fenótipo de Adenomas Hipofisários Familiares Isolados foram estudadas no Hospital Universitário de Brasília e previamente publicadas. Podem manifestar-se com comportamento biológico ou secretório mais exuberantes, diagnóstico em idade mais jovem e apresentar resistência ao tratamento farmacológico. Alguns desses pacientes integram a amostra de pacientes descrita neste trabalho.⁷²⁻⁷⁵

Acrogigantismo ligado ao cromossomo X (X-LAG) é uma síndrome caracterizada por gigantismo devido a hipersecreção de GH, recentemente descrita, causada por microduplicações no cromossomo Xq26.3 levando a excessiva expressão do gene GPR101, que codifica receptor acoplado de proteína G.⁷⁶ Tal síndrome pode ser de ocorrência esporádica, mas foram descritos casos de familiares acometidos em que o padrão de herança genética era dominante.⁷⁷ (**). Os pacientes apresentaram hipersecreção importante de GH, e usualmente associado a de prolactina, por macroadenoma ou hiperplasia hipofisária. O manejo terapêutico destes pacientes frequentemente é difícil pelo volume tumoral e resistência ao tratamento farmacológico convencional ^{77,78}, o que caracteriza o comportamento agressivo da doença.

1.5 Classificação

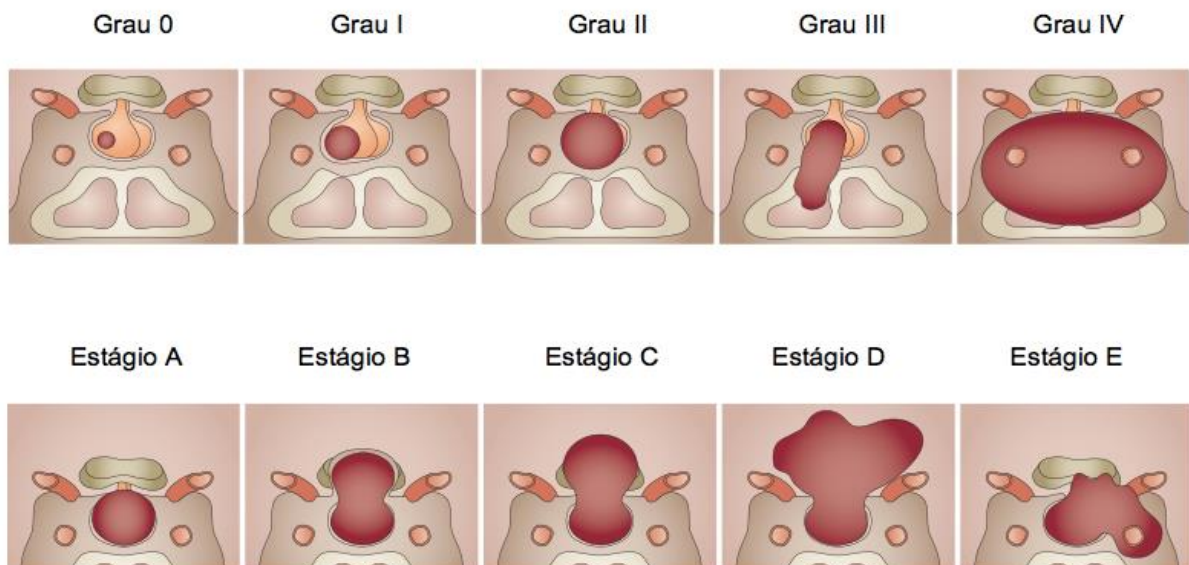
1.5.1 Classificação Anatômica

Os adenomas hipofisários podem ser categorizados de acordo com seus diâmetros e a invasão de estruturas adjacentes. São chamados microadenomas, as lesões de diâmetros menores que 10 milímetros, e macroadenomas, quando seus maiores diâmetros superam 10 milímetros. Lesões com maior diâmetro superior a 30 ou 40 milímetros (valor de corte ainda não consensual)^{79,80} ou, alternativamente, com volume maior que 10 centímetros cúbicos ⁸⁰, são classificadas como adenomas gigantes.

As neoplasias hipofisárias podem invadir estruturas adjacentes, como seios cavernosos e esfenooidal, na ordem de 25-55%.^{16,17,81} O primeiro sistema de classificação que fez menção a parâmetros de invasividade dos tumores hipofisários foi descrita por Hardy em 1969 ⁸² e modificada por Wilson em 1979.⁸³

A classificação foi feita de acordo com a destruição da cavidade selar (graus) e a extensão extra-selar tumoral (estágio) (Figura 1). Grau 0: sela túrcica intacta; Grau I: tumor com diâmetro menor que 10 milímetros restrito à cavidade selar, sela túrcica focalmente expandida e intacta; Grau II: tumor com diâmetro maior ou igual a 10 milímetros, sem perfuração do assoalho selar, sela túrcica aumentada; Grau III: perfuração focal da membrana dural e assoalho selar com extensão para seio esfenoidal; Grau IV: perfuração difusa das estruturas citadas anteriormente. Estágio A: tumor ocupando cisterna supra-selar, sem deformação do terceiro ventrículo; Estágio B: tumor ocupando cisterna supra-selar e oblitera recesso anterior do terceiro ventrículo; Estágio C: tumor oblitera recesso anterior do terceiro ventrículo com deformação e elevação de seu assoalho; Estágio D: extensão intra-dural; Estágio E: invasão de seio cavernoso via extra-dural lateral.

Figura 1 - Sistema de Classificação de Hardy

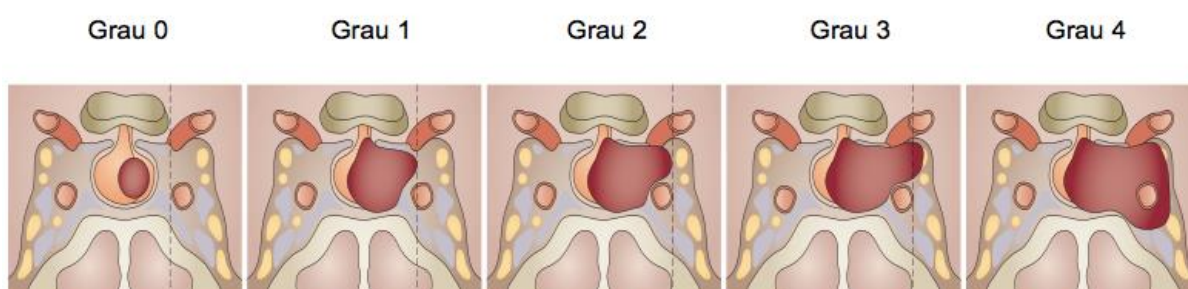


Modificado de Di Ieva, A. *et al. Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 423–435 (2014).⁹⁰

Em 1993, Knosp e colaboradores⁸⁴ propuseram outro sistema de classificação comparando achados intra-operatórios e de imagem, por ressonância nuclear magnética, de invasão de seios cavernosos (Figura 2). Grau 0: tumor sem envolvimento de seios cavernosos; Grau 1: tumor não ultrapassa linha tangente que

passa pelos centros dos dois segmentos da artéria carótida interna; Grau 2: tumor não ultrapassa linha tangente às margens laterais dos segmentos da artéria carótida interna; Grau 3: tumor ultrapassa linha tangente às margens laterais dos segmentos da artéria carótida interna; Grau 4: tumor engloba totalmente artéria carótida intracavernosa. Os graus 3 e 4 demonstram muito provavelmente invasão de seios cavernosos.

Figura 2 – Sistema de Classificação de Knosp



Modificado de Di Ieva, A. *et al. Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 423–435 (2014). ⁹⁰

Em 1997, Edal e colaboradores⁸⁵ publicaram uma nova proposta de sistema de classificação – SIPAP – baseada em achados radiológicos por ressonância nuclear magnética para caracterização morfológica de tumores hipofisários, com ênfase em extensão extra-selar e impacto nas estruturas adjacentes. SIPAP é um acrônimo que indica as possíveis direções de extensão tumoral em relação a sela túrcica: Superior, Inferior, Para-selar, Anterior, Posterior.

Segundo Edal e colaboradores⁸⁵, o volume tumoral também é calculado por meio da fórmula: diâmetros (Crânio-Caudal x Látero-Lateral x Ântero-Posterior)/2. Na verdade, o sistema SIPAP é baseado na Classificação de Knosp com adição de variáveis para acessar extensões supra-selares, infra-selares, bem como para as direções anterior e posterior. Extensão Superior: Grau 0 – tumor sem extensão para cisterna supra-selar; Grau 1 – extensão do tumor para cisterna supra-selar, sem contato com quiasma óptico; Grau 2 – tumor em contato com quiasma óptico sem deslocá-lo; Grau 3 – tumor descolando quiasma óptico; Grau 4 – hidrocefalia obstrutiva causada pelo tumor. Extensão Inferior: Grau 0 – assoalho selar intacto; Grau 1 – dilatação focal inferior da cavidade selar como sinal indireto de perfuração do assoalho selar; Grau 2 – penetração tumoral para o interior do seio esfenoidal.

Extensão Anterior: Grau 0 – tumor não ultrapassa linha perpendicular tangente ao tubérculo selar; Grau 1 – tumor ultrapassa linha perpendicular tangente ao tubérculo selar com extensão para fossa cranial anterior. Extensão Posterior: Grau 0 – tumor sem extensão para região ífero-posterior ao dorso da cavidade selar ou clívus ; Grau 1 – tumor com extensão para região ífero-posterior ao dorso da cavidade selar ou clívus. Extensão Para-Selar: graduação idêntica a classificação de Knosp.

Alternativamente, a partir de avaliação por ressonância nuclear magnética, infere-se invasão de seios cavernosos quando há envolvimento de mais de 2/3 (dois terços) da circunferência da carótida interna pelo tumor.⁸⁶ Entretanto, envolvimento da artéria carótida intra-cavernosa em mais de 30% de sua circunferência pode prever precocemente invasão tumoral de seio cavernoso com elevada sensibilidade e especificidade.⁸⁷ Nas classificações em uso atualmente, extensão supra-selar de tumores hipofisários não é considerada como sinal radiológico de invasão.⁸²

1.5.2 Classificação Patológica

Os adenomas hipofisários por serem neoplasias monoclonais, apresentam secreção hormonal específica, o que reflete a origem da diferenciação celular tumoral.^{88,89} Dessa forma, os tumores funcionantes podem produzir prolactina, hormônio do crescimento (GH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hormônio tireotrófico (TSH), gonadotrofinas (LH e FSH) ou subunidade alfa dos hormônios glicoproteicos. Os considerados não-funcionantes, em geral os gonadotropinomas e os adenomas *null cell* (sem expressão hormonal celular hipofisária), não secretam hormônios identificáveis na circulação e a síndrome clínica relaciona-se à compressão de estruturas adjacentes à hipófise e tecido hipofisário não-tumoral.

A descrição histopatológica detalhada dos adenomas hipofisários pode auxiliar na identificação de características indicativas de comportamento clínico agressivo (Quadro 1).

Quadro 1 – Tipos histológicos de adenomas hipofisários associados a agressividade tumoral^{90,91}

Adenomas de células de Crooke

caracterizados por células que apresentam acúmulo perinuclear de citoqueratina em resposta ao hipercortisolismo.

Adenomas corticotróficos esparsamente granulados

Adenomas gonadotróficos

geralmente não causam distúrbios hormonais; clinicamente silenciosos até atingir grandes volumes e invadir estruturas adjacentes.

Adenomas somatotróficos esparsamente granulados

Adenomas lactotróficos densamente granulados

Adenomas acidófilos de células-tronco

adenomas pluri-hormonais de rápido crescimento que se assemelham a adenomas de células indiferenciadas com imunopositividade focal para GH e prolactina.

Adenomas tireotróficos

Adenomas pluri-hormonais

adenomas que produzem mais de um hormônio hipofisário e em combinações atípicas, como FSH e GH ou prolactina e TSH.

Adenomas silenciosos

adenomas com evidência imunohistoquímica de produção hormonal, sem distúrbios bioquímicos e clínicos.

Adenomas silenciosos – subtipo 3

macroadenomas inativos com áreas focais de expressão de PRL, GH ou TSH associados a discreta hiperprolactinemia. Diagnóstico obrigatoriamente por microscopia eletrônica

Adenomas *null cell*

adenomas com imunoexpressão negativa para todos hormônios hipofisários.

Tumores hipofisários compostos por células de Crooke exibem uma evolução clínica agressiva em termos de invasão e recorrência.^{15,92,93} As células de Crooke, descritas pela primeira vez em 1935 em pacientes com hipercortisolismo,⁹⁴ são consideradas corticotrofos que, na presença de excesso de glicocorticóides,

apresentam grande acúmulo de citoqueratina perinuclear. Alguns tumores apresentam grande quantidade desse tipo celular e podem produzir ACTH, causando doença de Cushing ou sendo endocrinologicamente silenciosos. Já foi descrita transformação de adenomas de células de Crooke em carcinomas.⁹² Caracteristicamente, adenomas corticotróficos silenciosos, sem evidências clínicas e bioquímicas de hipersecreção hormonal, são habitualmente mais agressivos, parecem ser originários de linhagem menos diferenciada córtico-gonadotrófica⁹⁵ e recorrem mais frequentemente que tumores associados a hipercortisolismo⁹⁶ e outros tipos de adenomas clinicamente não-funcionantes.⁹⁷

Os corticotropinomas podem ser também classificados, por microscopia eletrônica, em densa e esparsamente granulados. Os adenomas corticotróficos densamente granulados são a causa a mais comum de Doença de Cushing, com marcada e difusa imunorreatividade para ACTH. Já os corticotropinomas esparsamente granulados apresentam-se como macroadenomas de reduzida capacidade secretória e estão associados ao desenvolvimento da Síndrome de Nelson após adrenalectomia bilateral.⁹¹

Os adenomas gonadotróficos em geral comportam-se silenciosamente do ponto de vista hormonal. Contudo, podem ser altamente infiltrativos e agressivos culminando em tumores volumosos com invasão de estruturas adjacentes à cavidade selar.⁹⁸

Por microscopia eletrônica, além da avaliação da densidade dos grânulos secretórios, pode-se verificar a extensão da imunopositividade hormonal e o número de mitoses por campo nos tumores hipofisários. Os adenomas somatotróficos esparsamente granulados, adenomas lactotróficos densamente granulados, adenomas acidófilos de células-tronco, adenomas tireotróficos, adenomas pluri-hormonais e adenomas *null cell* podem também exibir caráter clinicamente agressivo.⁹⁸⁻¹⁰¹ Houve descrição já de somatotropinomas silenciosos com comportamento agressivo que evoluíram para carcinomas.^{102,103}

1.5.2.1 Marcadores de Proliferação Celular

No intuito da busca de uma classificação padronizada para predição prognóstica e programação terapêutica das neoplasias hipofisárias agressivas,

apresenta-se com grande importância a pesquisa de marcadores tumorais acurados que permitam o diagnóstico precoce dessa condição.

O Ki-67, um indicador de proliferação celular que tem sua expressão detectada pelo anticorpo monoclonal MIB-1 e expressa em porcentagem de núcleos celulares imunopositivos, é amplamente utilizado como biomarcador em diversas neoplasias. Entretanto, a sua utilização como marcador de neoplasias hipofisárias é discutível devido a heterogeneidade dos estudos, falta de padronização técnica e discrepância em resultados publicados. Por isso, ainda necessitam-se protocolos para reprodutibilidade metodológica e aceitação consensual.^{104,105} O índice de positividade $\geq 3\%$ pode prever comportamento tumoral agressivo, bem como distinguir adenomas invasivos de não-invasivos com 97% de especificidade e 73% de sensibilidade.⁸¹

A expressão da proteína p53 relaciona-se ao comportamento biológico mais agressivo. Adenomas hipofisários volumosos, invasivos e com várias recorrências tendem a exibir forte e difusa imunopositividade para o biomarcador p53.^{92,93} Foi demonstrado por Thapar et al.¹⁰⁶ associação significativa entre índice de expressão da proteína p53 e comportamento tumoral (0% em adenomas não-invasivos, 15,2% em invasivos e 100% carcinomas hipofisários), o que também foi observado em outras ocasiões ^{107,108} no que tange a agressividade, invasividade e recorrência local tumoral. Entretanto, outros estudos não observaram esta correlação, suscitando dúvidas como biomarcador principalmente de recorrência,¹⁰⁹⁻¹¹¹ além disso, o método de sua quantificação ainda há de ser validado.^{106,112}

A proteína p27, envolvida na regulação da progressão do ciclo celular, apresenta imunoexpressão diminuída em neoplasias hipofisárias¹¹³, sendo assim, inversamente relacionada a presença do Ki-67, configurando-se então como um marcador adicional de comportamento tumoral hipofisário.^{114,115} Já a proteína p21, também reguladora do ciclo celular, foi recentemente relacionada como um promotor de senescência prematura em adenomas hipofisários, contribuindo com o fenótipo benigno desses tumores.¹¹⁶ Essas descobertas recentes sugerem uma grande influência da proteína p21 na progressão lenta dos tumores hipofisários.¹¹⁷ A situação inversa, expressão diminuída desta proteína, teoricamente estaria associada a agressividade neoplásica hipofisária.

A vascularização tumoral está associada a crescimento da lesão, comportamento agressivo e potencial metastático.¹¹⁸ VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) é um fator angiogênico importante que regula proliferação, permeabilidade e mobilidade celular endotelial. Sua expressão é relacionada a angiogênese e agressividade tumoral.¹¹⁸ Resultados encontrados até a atualidade apontam que VEGF talvez não contribua diretamente com invasão tumoral hipofisária, mas que esteja envolvido em vias que aumentem o volume da lesão e regulem invasividade tumoral.¹¹⁹⁻¹²² Por sua vez, o benefício da demonstração deste marcador seja seu potencial valor na decisão sobre terapêutica das neoplasias hipofisárias.¹²³

Ainda, recentemente outros marcadores têm se mostrado candidatos potenciais como preditores de agressividade tumoral hipofisária. Entre eles estão FGFR4 (*Fibroblast Growth Factors Receptors - 4*), MMP (*Matrix Metalloproteinases*), PTTG (*Pituitary Tumor Transforming Gene*) e deleções no cromossomo 11. Evidências sugerem que investigação adicional desses marcadores podem contribuir no manejo dos adenomas hipofisários agressivos.⁹⁹

O c-erbB2 é um proto-oncogene codificador de receptor transmembrana do tipo tirosina-quinase da família dos receptores do fator de crescimento epidermal (EGFR). Quando há expressão aberrante e mutação do receptor, ocorrem modificações no padrão de proliferação, migração, invasão e evasão do processo apoptótico com aumento de sobrevivência celular.¹²⁴⁻¹²⁶ A sua expressão está aumentada nos casos de carcinoma mamário com comportamento biológico agressivo. Dentre os tumores intra-cranianos, há dados díspares sobre a associação entre o papel da oncoproteína e o prognóstico das lesões.¹²⁷ A expressão do receptor c-erbB2 é encontrada em 31% de todos tumores hipofisários, sendo em 43% dos adenomas não-funcionantes¹²⁸⁻¹³⁰ e em 24% dos funcionantes.¹³¹⁻¹³³

Em estudos conduzidos no Hospital Universitário de Brasília, a prevalência da expressão de c-erbB2 em adenomas clinicamente não-funcionantes foi de 79%¹³⁴ e em adenomas secretores de GH e/ou prolactina de 52%.¹³⁵ Além disso, positividade citoplasmática para c-erbB2 foi observada em variáveis proporções de células em 40% de adenomas hipofisários invasivos, enquanto somente em 1,2% das lesões não-invasivas expressavam essa proteína.¹³²

Como há indícios da expressão aumentada de c-erbB2 em neoplasias hipofisárias com suspeição de agressividade, esta oncoproteína tem promissor potencial em futuras estratégias diagnósticas e terapêuticas. Juntos com Ki-67 e p53, esse e outros marcadores podem adicionar informações sobre o real papel biológico da proliferação celular nos tumores hipofisários.

1.5.3 Classificação Prognóstica

A Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs em 2004 um sistema de classificação para tumores hipofisários⁸ que os categoriza em adenomas típicos, adenomas atípicos e carcinomas. A maioria dos adenomas hipofisários são classificados como típicos por apresentarem características histológicas habituais, reduzida atividade mitótica e baixo índice proliferativo.⁸ Já o termo atípico é reservado aos tumores que têm características morfológicas não-habituais, como crescimento invasivo, elevada atividade mitótica, reação positiva $\geq 3\%$ para o antígeno Ki-67 e imunoreatividade extensa para p53. Os carcinomas hipofisários são definidos somente por demonstração diagnóstica de disseminação cérebro-espinhal ou metástases sistêmicas. A frequência de adenomas hipofisários atípicos varia de 2,7% a 15%,^{15,136} enquanto os carcinomas são bastante raros e representam somente 0,2% das neoplasias hipofisárias.¹⁴

A classificação proposta pela OMS, porém, não faz correlação com o comportamento clínico das lesões neoplásicas. Alguns adenomas típicos apresentam fenótipo agressivo e muitos adenomas atípicos não cursam com recorrência e resistência aos tratamentos convencionais. Mesmo adenomas hipofisários clinicamente agressivos sendo tumores não-metastáticos, podem apresentar características histopatológicas semelhantes aos carcinomas.¹³⁷ Adenomas com este tipo de comportamento devem ser diagnosticados precocemente, requerem vigilância clínica e radiológica mais estreita e devem ser tratados com maior agressividade. Ainda assim, dada a importância deste subtipo de tumores, não há marcadores clínicos, histopatológicos e radiológicos padronizados ou sistema de classificação com impacto prognóstico bem definido para neoplasias hipofisárias agressivas até a atualidade.⁹⁰

Recentemente foi publicado um estudo⁷⁹ que correlacionou os aspectos tissulares aos aspectos radiológicos e propôs uma nova classificação. Os tumores foram classificados (Quadro 2) a partir de uma combinação de suas características radiológicas (diâmetro e invasão) e imunohistopatológicas (proliferação), pelo grau de reatividade de Ki-67, p53 e número de mitoses por campo.

Quadro 2 - Classificação clínico-patológica de adenomas hipofisários

Classificação do tumor baseado nos seguintes critérios:

Invasivo: definido por sinais histológicos e/ou radiológicos (RNM) de invasão de seios cavernoso ou esfenoidal

Proliferativo: definido por ao menos 2 dos 3 critérios:

- Ki-67: $\geq 3\%$ (fixação por formalina)
- p53: positivo (>10 núcleos fortemente positivos/10 HPF)
- Mitoses: $n > 2/10$ HPF

Graus de tumores:

1A: tumor não-invasivo

1B: tumor não-invasivo e proliferativo

2A: tumor invasivo e não-proliferativo

2B: tumor invasivo e proliferativo

3: tumor metastático (cérebro-espinhal ou sistêmico)

RNM: Ressonância Nuclear Magnética; HPF: *High Power Field* ou Campo de Grande Aumento (0,3mm², 400x magnificação).

Modificado de Trouillas, J et al. Acta Neuropathol. 126, 123–135 (2013).⁷⁹

Tal classificação clínico-patológica é de fácil implementação e pode apresentar valor prognóstico na predição de status livre de recorrência e progressão tumoral, bem como apontar os tumores com sinais de invasão e proliferação como os com maior probabilidade de apresentar comportamento agressivo.

1.6 Modalidades Terapêuticas

O tratamento inicial dos adenomas hipofisários é baseado em protocolos estipulados para cada tipo tumoral, sendo eles hipersecretores hormonais ou clinicamente não-funcionantes. As modalidades terapêuticas podem ser cirurgia, radioterapia ou tratamento medicamentoso, de forma isolada ou em combinação.

Os prolactinomas têm como indicação de tratamento inicial o uso de agonistas dopaminérgicos, que podem normalizar a concentração de prolactina sérica circulante, bem como reduzir volume tumoral. Mesmo quando há sinais de compressão de quiasma óptico pelo adenoma, levando a diminuição de campo visual, o tratamento medicamentoso é habitualmente suficiente para restaurar a deficiência visual. Em 25% dos pacientes tratados com bromocriptina (7,5mg/dia) e 10-15% dos tratados com cabergolina (2,0mg/semana), não ocorre normalização da produção hormonal e redução tumoral.¹³⁸ Nos casos de resistência ao tratamento inicial, pode-se substituir ou aumentar a dose usual do agonista dopaminérgico utilizado e cogitar como opções o tratamento cirúrgico e/ou radioterápico.¹³⁸⁻¹⁴⁰

O tratamento cirúrgico é tido como opção de primeira linha em somatotropinomas¹⁴¹, corticotropinomas¹⁴² e tumores clinicamente não-funcionantes.¹⁴³ Para tumores secretores de GH, os índices de cura de até 90% nos microadenomas, e para macroadenomas em torno de 50%.^{117,144} Em pacientes com tumores muito volumosos, o uso de análogos de somatostatina de longa duração na fase pré-operatória para melhorar os resultados cirúrgicos ainda é controversa.¹⁴⁵ Na intenção de atingir a normalização bioquímica, podem ser realizados novas abordagens cirúrgicas¹⁴⁶ e, ainda assim não havendo remissão, tratamento medicamentoso e/ou radioterápico podem ser necessários.¹⁴⁷ Tratamento farmacológico primário pode ser pensado como única opção viável quando o paciente apresenta a doença primária avançada, comorbidades importantes e tumores volumosos, inoperáveis e invasivos. Nesse perfil de pacientes, análogos de somatostatina de longa duração são a primeira opção já que têm o potencial de agir tanto no controle bioquímico, quanto no volume tumoral. Entretanto, pode haver resistência terapêutica aos análogos de somatostatina quando os tumores apresentam ausência ou escassez de receptores para somatostatina e em somatotropinomas esparsamente granulados.¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ Nesse contexto, pegvisomant, antagonista do receptor de GH, surge como opção terapêutica.^{151,152} Pegvisomant tem

como efeito principal a redução dos níveis circulantes de IGF-1, mas não tem efeito sobre a lesão tumoral. Existe preocupação por parte de alguns pesquisadores se, pela perda do *feedback* negativo do IGF-1 em resposta ao tratamento, pode haver indução do crescimento tumoral hipofisário em alguns pacientes.¹⁵³

Cirurgia é também tida como primeira escolha de tratamento de adenomas produtores de ACTH. A farmacoterapia vem se tornando abordagem de segunda linha e radioterapia é uma alternativa em pacientes sem remissão bioquímica, com tumores residuais irressecáveis e naqueles que recusam cirurgia. Opções de tratamento medicamentoso incluem inibidores da esteroidogênese, agonistas dopaminérgicos, bloqueadores do receptor para glicocorticoide e análogos de somatostatina, especialmente pasiretotide.^{154,155} Vigilância estreita é recomendada em pacientes com tipos histológicos tumorais associados a comportamento clinicamente agressivo. Nesses casos, realização de adrenalectomia bilateral associada a radioterapia adjuvante da cavidade selar têm sido sugerida para controle da doença primária e reduzir risco de crescimento tumoral hipofisário.¹⁵⁶⁻¹⁵⁸

Os adenomas hipofisários clinicamente não-funcionantes possuem grande chance de cura com abordagem cirúrgica. Um estudo recente realizado no Hospital Universitário de Brasília, descreveu a evolução de 87 pacientes submetidos a cirurgia, com importante redução do volume tumoral, todavia com necessidade de múltiplas intervenções nos casos mais invasivos.¹⁵⁹ Nos pacientes que apresentam lesão residual, radioterapia pode ser utilizada para prevenção de recrescimento tumoral. Entretanto, dado a expressão de receptores para somatostatina e dopamina nas membranas celulares dos adenomas clinicamente não-funcionantes, tratamento com análogos de somatostatina e agonistas dopaminérgicos podem induzir diminuição tumoral em alguns casos.¹⁶⁰ O uso de análogos dopaminérgicos parece ser mais eficaz em termos de estabilização e redução tumoral.¹⁶¹⁻¹⁶²

Para tumores agressivos e recorrentes, a melhor opção terapêutica é a cirúrgica, pelo menos para o primeiro episódio de recorrência da doença. Estão disponíveis diferentes técnicas cirúrgicas que, a depender da experiência do neurocirurgião, podem ser utilizadas: cirurgia transcraniana, microcirurgia transesfenoidal com ou sem uso de endoscopia. A técnica endoscópica aumenta chance de exérese de maiores volumes de tumor, mesmo quando há invasão de seios

cavernosos.^{163,164} Em algumas ocasiões, múltiplas abordagens cirúrgicas e ciclos de radioterapia podem ser necessários.¹⁶⁵

As técnicas principais de radioterapia são: radioterapia estereotáxica fracionada, radiocirurgia com γ -knife, radiocirurgia com feixe de prótons e radiocirurgia com acelerador linear. Pelo fato de vários tumores apresentarem recidiva após terem sido irradiados, abre-se a possibilidade de novo procedimento radioterápico. Apesar de nova radioterapia poder ser realizada com novas técnicas, como radiocirurgia, aumenta-se de sobremaneira o risco do desenvolvimento de complicações secundárias, como neuropatia óptica actínica, panhipopituitarismo e necrose de lobo temporal.¹⁶⁶ Outras técnicas de medicina nuclear, como análogos de somatostatina rádio-marcados, ainda não estão padronizadas para utilização em adenomas hipofisários agressivos e continuam sob investigação.^{145,167}

Alguns protocolos de quimioterapia foram testados no tratamento de tumores hipofisários agressivos, porém nenhum demonstrou resultados animadores.¹⁴⁵ Todavia, temozolomida, agente alquilante de segunda geração, tem se apresentado como quimioterápico promissor no tratamento desse tipo de tumor. Temozolomida exerce efeito citotóxico por meio da metilação na posição O⁶ da guanina durante o ciclo de replicação do DNA. MGMT (6-O-metilguanina-DNA-metiltransferase) é uma enzima reparadora do DNA que reverte o efeito da temozolomida.¹⁶⁸ É observado, então, que reduzidas concentrações de MGMT potencializam os efeitos citotóxicos da temozolomida, revelando-se, assim, um potencial marcador prognóstico de resposta terapêutica.^{150,169} Alguns adenomas hipofisários produtores de ACTH, especialmente os agressivos, expressam baixas concentrações de MGMT, fazendo deles bons alvos terapêuticos para temozolomida.¹⁷⁰ Porém, no contexto da agressividade tumoral hipofisária, a temozolomida pode ser utilizada independente da expressão de MGMT.^{6,7,171} Alterações morfológicas após tratamento com temozolomida incluem hemorragia, necrose, fibrose e infiltrados inflamatórios locais, diminuição do número de mitoses e da imunoreatividade de Ki-67 e transformação neuronal.¹⁷² Atualmente são desconhecidos os efeitos a longo prazo do tratamento com temozolomida em pacientes responsivos e se o tratamento pode ser interrompido com segurança após a estabilização da doença. Temozolomida pode ser utilizada em várias situações: prolactinomas resistentes a agonistas dopaminérgicos e com crescimento continuado apesar de cirurgia e radioterapia; corticotropinomas,

especialmente adenomas com células de Crooke, esparsamente granulados e Síndrome de Nelson, não curados por cirurgia e radioterapia; adenomas clinicamente não-funcionantes recorrentes que apresentam crescimento mesmo após repetidas abordagens de cirurgia e radioterapia.⁹⁰ Por ainda não haver padronização de características diagnósticas e prognósticas para tumores hipofisários agressivos, não é possível definir o melhor momento para início de terapia com temozolomida. Entretanto, esse agente tem sido utilizado como última opção terapêutica após tentativas de tratamento cirúrgico e um ou mais cursos de radioterapia.¹⁷³⁻¹⁷⁷ Como perspectiva, novos agentes quimioterápicos estão sendo testados, como everolimus (inibidor via mTOR)¹⁷⁸, bevacizumab (anticorpo monoclonal recombinante anti-VEGF)¹⁷⁷ e bloqueadores dos receptores EGFR2/erbB2, hiperexpressos em tumores hipofisários como prolactinomas ^{179,180}, mas ainda necessita-se também de maiores investigações.

1.7 Sistemas de Informações Geográficas (SIGs)

Os Sistemas de Informações Geográficas (SIGs) são uma importante ferramenta utilizada no estudo da distribuição espacial de doenças e sua relação com fatores externos. Esse método permite a associação de características epidemiológicas, clínicas e evolutivas da doença a aspectos sócio-geográficos da região estudada.¹⁸¹

1.7.1 Conceito

Os SIGs consistem em sistemas informatizados que integram *hardware*, *software* e dados para armazenamento, gerenciamento, análise e exibição de aspectos referentes a informações geograficamente relacionadas. Permitem ver, compreender, questionar, interpretar e visualizar dados de maneiras variadas, possibilitando a identificação de relações, padrões e tendências na forma de mapas, relatórios e gráficos.^{181,182}

1.7.2 Utilização dos SIGs na análise de doenças

Alguns autores têm utilizado os SIGs em estudos epidemiológicos para avaliar dados espaciais, associar dados demográficos e ambientais, representando possíveis diferenças em vários estilos cartográficos.¹⁸³ Constituem um excelente método para

visualização e análise de dados epidemiológicos, revelando tendências, dependências e inter-relações.

O emprego dos SIGs tem se desenvolvido principalmente no campo das doenças infecciosas e da oncologia. Na área de infectologia, tem se mostrado particularmente útil ao permitir a identificação de fatores ambientais relacionados à transmissão de patógenos e a representação da distribuição geográfica das doenças e suas variações,¹⁸⁴⁻¹⁸⁶ que pode inclusive ser diagramada em tempo real, como por exemplo, na vigência de surtos.^{184,187}

Em oncologia, o mapeamento do câncer fornece importantes informações quanto a variações geográficas de incidência, mortalidade, características do tumor, etiologia, rastreamento e tratamento. As análises com SIGs podem auxiliar na identificação de fatores causais, possibilitando prevenção primária.¹⁸⁸

1.7.3 Utilização dos SIGs em Endocrinologia

Poucos estudos empregaram a ferramenta SIG para o estudo de doenças endócrinas. Recentemente, alguns autores descreveram a aplicação desse método na avaliação de obesidade e diabetes, com foco na identificação de características socioambientais que constituam fatores de risco para essas patologias e no planejamento de programas de saúde.¹⁸⁹⁻¹⁹¹

No Brasil, existem poucos estudos referentes a fatores espaciais, os dados quanto à incidência e prevalência das doenças endócrinas não estão bem estabelecidos. O primeiro estudo que permitiu a aplicação dos Sistemas de Informações Geográficas às características clínicas observadas em amostra de pacientes portadores de acromegalia foi publicado por nosso grupo de pesquisas no ano de 2015.¹³ Não existem, até o momento, estudos publicados que avaliem essa ferramenta e outros tipos de patologias hipotálamo-hipofisárias.

2 RELEVÂNCIA DO ESTUDO

Os adenomas hipofisários apresentam grande variedade fenotípica e são frequentemente subdiagnosticados. Apesar de serem em sua maioria benignos, alguns apresentam comportamento agressivo e representam uma entidade patológica distinta, que requer a identificação de critérios diagnósticos específicos, não somente do ponto de vista clínico, mas também de marcadores moleculares, radiológicos e histopatológicos.⁹⁰

As classificações anatômicas, histopatológicas ou combinadas apresentam falhas e estudos robustos são necessários para determinar o valor preditor da evolução desses pacientes. Estudos realizados previamente no Hospital Universitário de Brasília, descreveram expressão aumentada de c-erbB2, Ki-67 e p53 em neoplasias hipofisárias com suspeição de agressividade.^{134,135}

O presente estudo teve por objetivo, avaliar retrospectivamente a evolução clínica e o comportamento biológico de tumores que foram submetidos a avaliação imunohistoquímica para os marcadores de proliferação e correlacionar com o impacto na evolução e desfecho clínico dos pacientes até por mais de 10 anos de acompanhamento. O estudo avaliou os critérios de classificação dos adenomas propostos nos últimos anos e poderá adicionar informações sobre o real papel biológico da proliferação celular nos tumores hipofisários.

A originalidade do estudo consiste em validar, em coorte de longo prazo, os marcadores tissulares prognósticos propostos e publicados pelo grupo de estudos do Hospital Universitário de Brasília, comparando-os com os aspectos radiológicos, terapêuticos e clínicos dos pacientes no período de pelo menos 10 anos após a análise histológica pós-operatória. Trata-se do primeiro estudo a realizar avaliação geoestatística em adenomas hipofisários agressivos utilizando o Sistema de Informações Geográficas em colaboração com o Instituto de Geociências da Universidade de Brasília, para definir a distribuição espacial e acesso ao atendimento de saúde, reforçando a linha de pesquisa e sua multidisciplinaridade.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Principal

- Avaliar retrospectivamente se a presença de potenciais marcadores radiológicos e tissulares, por critérios de invasão tumoral e proliferação celular, causaram impacto na evolução de adenomas hipofisários que apresentaram comportamento agressivo durante seguimento clínico por pelo menos 10 anos.

3.2 Objetivos Secundários

- Correlacionar a presença dos marcadores de proliferação celular (p53, Ki-67 e c-erbB2) e sinais de invasão tumoral ao diagnóstico com o crescimento e/ou recorrência da lesão neoplásica após tratamento inicial.
- Comparar as características clínicas, anatômicas e imunohistoquímicas com a evolução neoplásica a longo prazo.
- Georeferenciar os pacientes no Distrito Federal.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Local do Estudo

Estudo foi conduzido no Serviço de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília. A coleta e a seleção dos dados pertinentes foram realizadas no período de fevereiro de 2013 a dezembro de 2014, por meio de revisão de prontuários.

4.2 Tipo do Estudo

O estudo é observacional de coorte retrospectiva, não-randomizado e não-controlado.

4.3 Seleção de Pacientes

4.3.1 Critérios de Inclusão

- Pacientes com diagnóstico confirmado de macroadenoma hipofisário com sinais de invasão tumoral e/ou extensão supra-selar operados previamente por via transesfenoidal, submetidos a avaliação imunohistoquímica tecidual para hormônios (FSH, LH, TSH, ACTH, GH e prolactina) e biomarcadores de proliferação Ki-67, p-53 e c-erbB2, com seguimento ambulatorial periódico de no mínimo 10 anos e que apresentaram pelo menos um dos critérios:
 - lesão inicial de diâmetro \geq 30 milímetros;
 - recorrência tumoral ou recrescimento do tecido residual neoplásico após tratamento cirúrgico;
 - resistência a tratamentos adjuvantes convencionais.
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.3.2 Critérios de Exclusão

- Pacientes com diagnóstico confirmado de macroadenoma hipofisário não submetidos a tratamento cirúrgico.

- Pacientes cuja avaliação imunohistoquímica não foi realizada.
- Pacientes sem seguimento ambulatorial periódico ou menor de 10 anos.
- Pacientes simultaneamente com lesão inicial < 30 milímetros, sem sinais de recorrência e recrescimento tumoral e sem resistência aos protocolos de tratamento convencionais.
- Não concordância ou assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.4 Procedimentos Técnicos

4.4.1 Avaliação Geral

Dados como idade ao diagnóstico, gênero, endereço domiciliar dos pacientes, modalidade e número de intervenções terapêuticas e informações e eventos clínicos relevantes foram coletados e analisados por meio de consulta e revisão de prontuários do Hospital Universitário de Brasília.

4.4.2 Avaliação Radiológica

Informações sobre as características radiológicas dos tumores foram obtidas retrospectivamente por análise de imagens de Ressonância Nuclear Magnética de sela túrcica arquivadas no Serviço de Radiologia do Hospital Universitário de Brasília. Invasão de seio cavernoso foi considerada quando houve envolvimento de mais de 2/3 (dois terços) da circunferência da carótida interna pelo tumor⁸⁶ ou baseada nas Classificações de Knosp et al.⁸⁴ e Edal et al.⁸⁵ nos graus 3 e 4. Invasão do seio esfenoidal foi considerada quando houve erosão do assoalho selar e/ou penetração tumoral para o interior do seio esfenoidal, graus 1 e 2 pela Classificação de Edal et al.⁸⁵ Foram considerados também invasivos os tumores que apresentaram extensão supra-selar importante, grau 4 pela Classificação de Edal et al.⁸⁵, em contato íntimo com terceiro ventrículo e parênquima cerebral adjacente causando hidrocefalia obstrutiva. Os diâmetros máximos de cada lesão e as outras características morfológicas tumorais foram determinados antes e após qualquer intervenção terapêutica e eventos médicos relevantes.

4.4.3 Avaliação Imunohistoquímica

As análises anátomo-patológica e imunohistoquímica das lesões foram realizadas previamente pelo Serviço de Patologia do Hospital Universitário de Brasília e seus resultados foram parcialmente publicados por Ferreira et al.¹³⁴ e Botelho et al.¹³⁵

Os fragmentos tumorais foram fixados em formalina a 10%, incorporados em parafina de acordo com os procedimentos padrões histológicos e corados com Hematoxilina e Eosina. As avaliações imunohistoquímicas, utilizando-se sistemas streptoavidina-biotina, incluíram os perfis hormonais hipofisários e de biomarcadores p53, Ki-67 e c-erbB2. Os anticorpos usados, clones e respectivas diluições estão indicados no Anexo 1.1. As reações foram reveladas com diaminobenzidina (DAB) e contra-coradas com hematoxilina. Os resultados imunohistoquímicos referentes a detecção de secreção hormonal e presença de marcadores tumorais foram expressos em graus (1+ a 4+). Foram considerados tumores secretantes aqueles com qualquer reação positiva (1+ a 4+) para os anticorpos Anti-GH, PRL, FSH, LH, TSH e ACTH (Anexo 1.2). No presente estudo, considerou-se como parâmetro de alto potencial proliferativo a imunoexpressão dos marcadores $p53 \geq 3+$, $Ki-67 \geq 2+$ (Anexo 1.3) e $c-erbB2 \geq 2+$ (Anexo 1.4).¹³⁵

4.4.4 Avaliação Clínico-Patológica

Os tumores foram classificados a partir de uma combinação de suas características radiológicas (diâmetro e invasão) aos exames de imagem e suas características imunohistopatológicas (proliferação), pelo grau de reatividade de p53, Ki-67 e c-erbB2 (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação clínico-patológica de adenomas hipofisários

Classificação do tumor baseado nos seguintes critérios:

Invasivo: definido por sinais de invasão de seios cavernoso ou esfenoidal, ou extensão supra-selar com compressão de 3º ventrículo ou parênquima cerebral adjacente.

Proliferativo: definido por ao menos 2 dos 3 critérios:

- p53 \geq 3+
- Ki-67 \geq 2+
- c-erbB2 \geq 2+

Sistema de graduação:

1A: tumor não-invasivo e não-proliferativo

1B: tumor não-invasivo e proliferativo

2A: tumor invasivo e não-proliferativo

2B: tumor invasivo e proliferativo

3: tumor metastático (cérebro-espinhal ou sistêmico)

4.4.5. Sistemas de Informações Geográficas (SIGs)

Foram analisados espacialmente os dados dos pacientes utilizando o software ArcGIS - versão 9.3 (ESRI, Redlands, CA, USA) com as extensões de Análise Espacial (Spatial Analyst), acoplados aos programas estatísticos S-PLUS 2000. As unidades de análise foram as regiões administrativas do Distrito Federal. Os dados do registro eletrônico dos pacientes foram convertidos para uma base de dados estruturada para uso no SIG acima mencionado. O georeferenciamento foi realizado de modo a determinar as coordenadas de latitude e longitude de acordo com o endereço domiciliar de cada paciente incluído. Todas as áreas georeferenciadas consideraram os endereços nos últimos 10 anos antes do diagnóstico, incluindo aqueles localizados fora do Distrito Federal. O uso dos códigos de endereçamento postal (CEP) foi essencial na captação de coordenadas e a confidencialidade da localização foi mantida pela exclusão dos três últimos dígitos do CEP, obedecendo às

políticas de proteção a privacidade recomendadas pelo Institute of Medicine (IOM).^{192,193}

Os mapas utilizados no presente estudo estão em escala 1:10.000.000 e 1:300.000 e nenhuma coordenada geográfica (latitude e longitude) foi mostrada para preservar a confidencialidade individual dos pacientes. O método de otimização de Jenks, que é um sistema de classificação muito aplicado em análises de informações geográficas, foi utilizado em algumas representações cartográficas para determinar a melhor distribuição de valores de dados em diferentes classes e permite o melhor ajuste de variância intra e entre classes.^{194,195}

4.5 Procedimentos Analíticos

Inicialmente, para as variáveis quantitativas foi empregado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se as mesmas apresentavam distribuição gaussiana nos diversos grupos (modalidades terapêutica, grau de evolução ou sexo) a serem comparados. Observou-se que as mesmas apresentavam distribuição gaussiana, os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e aplicados os testes de análise de variância (ANOVA) ou t de Student. O método de Tukey-Kamer foi utilizado para comparações múltiplas.

Para as variáveis qualitativas os resultados foram expressos em frequência (%) e empregaram-se os testes de qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher. Nas tabelas com dimensões maiores que 2x2, em que verificaram-se associações significativas, foi realizada a análise do resíduo de Pearson para determinar qual categoria apresentou o maior efeito sobre a associação entre as variáveis.¹⁹⁶ Resíduo de Pearson foi considerado estatisticamente significativo quando esteve fora do intervalo [-1,96; +1,96].

O nível de significância foi fixado em p-valor $< 0,05$. Para as análises estatísticas foi utilizado o software SAS - versão 9.4 (SAS Institute 2012, NC, USA).

4.6 Procedimentos Éticos

O estudo foi realizado de acordo com a declaração de Helsinki e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

5 RESULTADOS

5.1 Características Gerais

Foram incluídos no presente estudo 50 pacientes, 24 homens (48%) e 26 mulheres (52%), com média \pm DP (intervalo) de idade ao diagnóstico $34,8 \pm 16,4$ anos (11-73 anos), sem diferença estatisticamente significativa entre os sexos ($p = 0,1557$). Tais pacientes foram recrutados por meio do registro ambulatorial da Unidade de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário de Brasília. Foram acompanhados neste Serviço entre os anos de 1984 e 2014, apresentando tempo médio \pm DP de seguimento pós-operatório de $15,2 \pm 4,8$ anos.

A maioria dos adenomas hipofisários diagnosticados eram esporádicos, enquanto 8% foram classificados como Adenomas Hipofisários Familiares Isolados (FIPA), com igual frequência entre os sexos. A distribuição dos adenomas hipofisários de acordo com a secreção hormonal específica não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os sexos ($p = 0,8431$), entretanto percebeu-se maior prevalência dos tumores do tipo *null cell* e GH-secretantes na amostra global (Tabela 2).

Tabela 2 - Características gerais dos pacientes ao diagnóstico.

	Total (%) (n=50)	Distribuição por sexo (%)		<i>p</i> -valor*
		Homens (n=24)	Mulheres (n=26)	
Idade ao diagnóstico (anos)	34,8 \pm 16,4	31,3 \pm 15,4	38,0 \pm 16,9	0,1557
Adenomas Hipofisários				1,0000
Esporádicos	46 (92)	22 (92)	24 (92)	
Familiares Isolados (FIPA)	4 (8)	2 (8)	2 (8)	
Tipo de tumor (por expressão hormonal)				0,8431
GH	14 (28)	8 (33)	6 (23)	
PRL	8 (16)	3 (13)	5 (19)	
ACTH	3 (6)	1 (4)	2 (8)	
LH/FSH	7 (14)	4 (17)	3 (11)	
Null Cell	18 (36)	8 (33)	10 (38)	

Valores expressos em média \pm desvio-padrão ou frequência (%).

**p*-valor calculado pelos testes t de Student ou Qui-quadrado de Pearson.

5.2 Características Radiológicas e Imunohistoquímicas

A média \pm DP de diâmetros máximos tumorais ao diagnóstico foi de $44,7 \pm 13,6$ milímetros. As prevalências de adenomas com diâmetro < 30 milímetros, entre 30 e 40 milímetros e > 40 milímetros foram respectivamente de 12%, 20% e 68%. Foi observado que 94% dos adenomas foram considerados invasivos, conforme proposta metodológica do presente estudo, na avaliação diagnóstica inicial. Os tumores apresentaram sinais de invasão para-selar em 84% (22% invasão unilateral, 62% invasão bilateral) e infra-selar em 80% dos casos. A frequência de extensão supra-selar em qualquer grau foi observada em 98% da amostra, sendo que extensão supra-selar para 3º ventrículo e/ou parênquima cerebral adjacente, grau 4 da classificação de Edal⁸⁵, foi prevalente em 64% dos casos totais (Tabela 3).

A amostra total foi composta de 56% de adenomas considerados clinicamente não-funcionantes. Destes, a revisão da descrição imunohistoquímica demonstrou 36% de adenomas *null cell*, 14% de gonadotropinomas e 6% de corticotropinomas silenciosos. Os demais adenomas eram secretores de prolactina (16%) e de GH (28%) e apresentaram quadro clínico característico (Tabela 3).

A frequência de imunoexpressão de marcadores em índices de alto potencial proliferativo foi de 60% para p53 ($\geq 3+$), 33% para Ki-67 ($\geq 2+$) e 67% para c-erbB2 ($\geq 2+$), conforme detalhado na Tabela 3. Tumores com imunoexpressão de pelo menos 2 marcadores em índices de alto potencial proliferativo foram observados em 54% da amostra e considerados, assim, adenomas proliferativos (graus 1B e 2B).

De acordo com a classificação clínico-patológica proposta, uma associação entre critérios anatômicos e patológicos, foi observada a prevalência de tumores não-invasivos e não-proliferativos (grau 1A) em 4%, não-invasivos e proliferativos (grau 1B) em 2%, invasivos e não-proliferativos (grau 2A) em 42% e invasivos e proliferativos (grau 2B) em 52% da amostra total avaliada (Tabela 3). Tumores metastáticos não foram observados.

Tabela 3 – Caracterização radiológica e imunohistoquímica dos tumores ao diagnóstico.

Características radiológicas	Total (%)
	n=50
Diâmetro tumoral (mm)	44.7±13.6
Invasão para-selar	42 (84)
Invasão infra-selar	40 (80)
Extensão supra-selar	49 (98)
Extensão para 3º ventrículo	32 (64)
Características imunohistoquímicas	Total (%)
Expressão hormonal	
GH	14 (28)
PRL	8 (16)
ACTH	3 (6)
LH/FSH	7 (14)
<i>Null Cell</i>	18 (36)
p53	
≥ 3+	29 (60)
Ki-67	
≥2+	16 (33)
c-erbB2	
≥ 2+	31 (67)
Classificação clínico-patológica	Total (%)
Graus	
1A	2 (4)
1B	1 (2)
2A	21 (42)
2B	26 (52)

Valores expressos em média ± desvio-padrão ou frequência (%).

5.3 Marcadores de Proliferação

Foi analisada a associação entre a intensidade de expressão dos marcadores de proliferação tumoral e características clínicas dos pacientes da amostra do presente estudo (Tabela 4). A média de idade ao diagnóstico foi significativamente menor, do ponto de vista estatístico, nos pacientes portadores de adenomas hipofisários com imunoexpressão em índices de alto potencial proliferativo para p53 ($\geq 3+$) e Ki-67 ($\geq 2+$) ($p = 0,021$ e $p < 0,0001$, respectivamente). Não foi observada associação significativa entre expressão do marcador tumoral c-erbB2 e idade ao diagnóstico. Ainda, não houve também relação estatisticamente significativa entre imunoexpressão dos marcadores tumorais avaliados e sexo.

Parâmetros radiológicos, como diâmetro tumoral, invasão para e infra-selar e extensão supra-selar, foram analisados em relação à intensidade de imunoexpressão dos marcadores de proliferação tumoral (Tabela 4). Houve associação estatisticamente significativa entre forte imunoexpressão de Ki-67 ($\geq 2+$) e diâmetros tumorais maiores ao diagnóstico. Não foi observada relação significativa entre expressão dos marcadores p-53 e c-erbB2 e máximos diâmetros tumorais ao diagnóstico.

Sinais de invasão para e infra-selar foram observados em 84% e 80% dos casos, respectivamente, porém não foi observada associação significativa com a expressão dos marcadores de proliferação estudados. Extensão supra-selar em qualquer grau foi observada em todos os pacientes, exceto um. Por conta disso, a comparação entre grupos com extensão supra-selar presente e ausente fica impossibilitada. Entretanto, avaliando-se o subgrupo com extensão tumoral para o 3º ventrículo/parênquima cerebral, foi verificada relação significativa com imunoexpressão do marcador p53 ($p = 0,013$), mas não com expressão de Ki-67 e c-erbB2.

Em relação ao perfil de expressão hormonal tecidual, houve associação significativa entre a intensidade de expressão do marcador Ki-67 e o tipo de tumor ($p = 0,038$). Foi observado que gonadotropinomas (100%), corticotropinomas silenciosos (100%) e adenomas do tipo *null cell* (72%) estiveram associados à expressão em índices de baixo potencial proliferativo de Ki-67 ($< 2+$), enquanto que prolactinomas (63%) estiveram mais associados à expressão de Ki-67 $\geq 2+$. Forte imunoexpressão

de p53 foi verificada em 88% dos prolactinomas e de c-erbB2 em 83% dos adenomas do tipo *null cell* e 71% dos gonadotropinomas, porém sem diferença estatisticamente significativa em comparação aos outros tipos tumorais.

Tabela 4 – Avaliação dos marcadores de proliferação tumoral p53, Ki-67 e c-erbB2 em relação aos parâmetros clínicos e radiológicos.

	p53			Ki-67			c-erbB2		
	< 3+	≥ 3+	p*	< 2+	≥ 2+	p*	< 2+	≥ 2+	p*
Idade (anos)	42±15	31±16	0.021	42±15	23±12	<0.001	35±16	35±17	0.955
Diâmetro(mm)	40±10	50±10	0.062	40±10	50±10	0.009	50±10	40±10	0.937
Invasão									
Para-selar			0.235			0.701			0.703
Não	5(26)	3(10)		6(19)	2(13)		2(13)	6(19)	
Sim	14(74)	26(90)		26(81)	14(87)		13(87)	25(81)	
Infra-Selar			0.451			0.238			0.242
Não	5(26)	4(14)		8(25)	1(6)		1(7)	7(23)	
Sim	14(74)	25(86)		24(75)	15(94)		14(93)	24(77)	
Extensão									
Supra-selar			0.395			1.000			1.000
Não	1(5)	0(0)		1(3)	0(0)		0(0)	1(3)	
Sim	18(95)	29(100)		31(97)	16(100)		15(100)	30(97)	
3º ventrículo			0.013			0.087			0.421
Não	11(58)	6(21)		14(44)	3(19)		4 (36)	12(39)	
Sim	8 (42)	23 (79)		18(56)	13(81)		11(64)	19(61)	

Valores expressos em média ± desvio-padrão ou frequência (%).

* *p*-valor calculado pelos testes t de Student, qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher.

5.4 Modalidades Terapêuticas

A Tabela 5 apresenta a relação entre as características clínicas e radiológicas tumorais e o tipo de intervenção terapêutica realizada. Os pacientes da nossa amostra foram tratados por cirurgia transfenoidal somente ou por intervenções combinadas, como cirurgia seguida de tratamento medicamentoso e/ou radioterapia. A modalidade terapêutica mais frequentemente utilizada (40% dos casos) foi cirurgia associada a tratamento medicamentoso. Ressalta-se que as idades médias ao diagnóstico do grupo de pacientes submetido a cirurgia e tratamento medicamentoso e do grupo submetido a cirurgia, radioterapia e tratamento medicamentoso são significativamente menores ($p = 0,0008$) quando comparadas aos grupos em que foram realizadas outras estratégias terapêuticas.

Existe uma associação significativa entre sinais de invasão infra-selar e a modalidade terapêutica empregada ($p = 0,0219$). Pacientes que não apresentaram invasão infra-selar foram mais frequentemente submetidos a apenas a cirurgia [Resíduo de Pearson = +2], enquanto aqueles que apresentaram invasão infra-selar foram submetidos a cirurgia combinada a tratamento medicamentoso na maioria das vezes [Resíduo de Pearson = +2] (Tabela 5). Para os outros parâmetros de invasão e extensão e diâmetro máximo tumoral ao diagnóstico, não houve evidências significativas de associação com tipo de intervenção terapêutica realizada.

Tabela 5 – Características clínicas e radiológicas e intervenções terapêuticas.

Idade e características radiológicas	Intervenções terapêuticas				<i>p</i> -valor*
	Apenas cirurgia (%)	Cirurgia e tratamento medicamentoso (%)	Cirurgia e radioterapia (%)	Cirurgia, tratamento medicamentoso e radioterapia (%)	
Pacientes n (%)	11 (22)	20 (40)	11 (22)	8 (16)	
Idade (anos) †	40 ± 13	29 ± 16	48 ± 11	23 ± 15	0.0008
Diâmetro(mm)	43,7 ± 17,5	46,3 ± 12,2	44,7 ± 15,3	41,9 ± 9,8	0.8812
Invasão					
Para-selar					0.7288
Não	1(13)	3(37)	3(37)	1(13)	
Sim	10 (24)	17 (40)	8 (19)	7 (17)	
Infra-selar					0.0219
Não	5(50)[2]	1(10)[-2]	1(10)[-1]	3(30)[1]	
Sim	6 (15)[-2]	19 (48)[2]	10 (25)[1]	5 (12)[-1]	
Extensão					
Supra-selar					0.1600
Não	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)	
Sim	11 (22)	20 (41)	11 (22)	7 (14)	
Extensão					
3º ventrículo					0.1805
Não	5(28)	4(22)	4(22)	5(28)	
Sim	6 (19)	16 (50)	7 (22)	3 (9)	

Valores expressos em média ± desvio-padrão ou frequência (%) e [Resíduo de Pearson].

† Resultados do teste de comparações múltiplas de Tukey: Cirurgia + Radioterapia vs. Cirurgia + Tratamento Medicamentoso ($p = 0,0040$) e Cirurgia + Radioterapia vs. Cirurgia + Radioterapia + Tratamento Medicamentoso ($p = 0,0022$).

* *p*-valor calculado pelo teste qui-quadrado de Pearson.

Foi verificada associação significativa entre a modalidade terapêutica empregada e o tipo de tumor de acordo com a secreção hormonal ($p = 0,0186$). Os pacientes diagnosticados com tumores produtores de GH e prolactina [Resíduo de Pearson = +2] tiveram como opção terapêutica mais prevalente cirurgia associado a tratamento medicamentoso. Pacientes com adenomas do tipo *null cell* [Resíduo de Pearson = +2] foram submetidos a cirurgia seguida de radioterapia em maior frequência (Tabela 6). Para os outros tipos de procedimento não existem evidências significativas de associação com o tipo de tumor.

A associação entre o marcador Ki-67 e as modalidades terapêuticas utilizadas apresentou-se estatisticamente significante ($p = 0,0110$), conforme detalhado na Tabela 6. Tumores com expressão de Ki-67 em índices de baixo potencial proliferativo ($< 2+$) foram mais frequentemente submetidos a somente cirurgia e a cirurgia combinada a radioterapia [Resíduo de Pearson = +2]. Já os adenomas com expressão do mesmo marcador tumoral em índices de alto potencial proliferativo ($\geq 2+$) tiveram como intervenção terapêutica mais prevalente a cirurgia associada à farmacoterapia [Resíduo de Pearson = +2]. Não se verificaram associações estatisticamente significativas entre a intensidade de expressão dos marcadores p53 e c-erbB2 e as modalidades terapêuticas empregadas.

Como mostra a Tabela 6, não houve associação significativa entre o tipo de tumor, segundo a classificação clínico-patológica, e as modalidades terapêuticas empregadas ($p = 0,6858$). Há de se notar, entretanto, que os adenomas invasivos, sendo eles proliferativos (grau 2B) ou não (grau 2A), tiveram como opção terapêutica utilizada mais frequentemente, 43% dos casos, cirurgia combinada a farmacoterapia. As estratégias de tratamento realizadas apresentaram distribuição igualitária quando comparados os grupos de pacientes com tumores proliferativos (graus 1B + 2B) e não-proliferativos (1A + 2A) ($p = 1,0$).

Tabela 6 – Características imunohistoquímicas, classificação tumoral e intervenções terapêuticas.

	Intervenções terapêuticas				<i>p</i> -valor*
	Apenas cirurgia (%)	Cirurgia e tratamento medicamentoso (%)	Cirurgia e radioterapia (%)	Cirurgia, tratamento medicamentoso e radioterapia (%)	
Pacientes n (%)	11 (22)	20 (40)	11 (22)	8 (16)	
Características imunohistoquímicas					
Expressão hormonal					0.0186
GH (n=14)	1 (7)[-2]	9 (64)[2]	0 (0.00)[-2]	4 (29)[1]	
PRL (n=8)	1 (13)[-1]	6 (74)[2]	0 (0.00)[-2]	1 (13)[-0]	
ACTH (n=3)	1 (33)[0]	0 (0)[-1]	1 (33)[0]	1 (33)[1]	
LH/FSH (n=7)	2 (29)[0]	2 (29)[-1]	3 (42)[1]	0 (0)[-1]	
<i>Null Cell</i> (n=18)	6 (33)[1]	3 (17)[-2]	7 (39)[2]	2 (11)[-1]	
Marcadores tumorais					
p53					0.1527
< 3+	4 (21)	4 (21)	7 (37)	4 (21)	
≥ 3+	7 (24)	14 (48)	4 (14)	4 (14)	
Ki-67					0.0110
< 2+	10 (31)[2]	8 (25)[-2]	10 (31)[2]	5 (13)[-1]	
≥2+	1 (6)[-2]	10 (63)[2]	1 (6)[-2]	4 (25)[1]	
c-erbB2					0.3018
< 2+	4 (27)	8 (53)	2 (13)	1 (7)	
≥ 2+	7 (23)	9 (29)	9 (29)	6 (19)	
Classificação clínico-patológica					
					0.6858
1A	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	
1B	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	
2A	4 (19)	9 (43)	5 (24)	3 (14)	
2B	6 (23)	11 (43)	5 (19)	4 (15)	

Valores expressos em frequência (%) e [Resíduo de Pearson].

* *p*-valor calculado pelo teste qui-quadrado de Pearson.

5.5 Impacto Prognóstico

O impacto dos aspectos clínicos e radiológicos ao diagnóstico sobre o desfecho clínico está representado na Tabela 7. Foram verificadas maior taxa de recorrência/recrescimento tumoral entre as mulheres (65%) e maior prevalência de estabilidade volumétrica tumoral entre os homens (62%). Entretanto, não houve relação estatisticamente significativa entre evolução clínica dos tumores após tratamento e sexo ($p = 0,3990$), idade ao diagnóstico ($p = 0,4197$) e diâmetro tumoral inicial ($p = 0,0524$).

A ausência de sinais de invasão para-selar esteve associada a maior frequência de estabilidade volumétrica tumoral após tratamento ($p = 0,0389$) [Resíduo de Pearson = +3]. Contudo, presença de invasão para-selar não esteve relacionada a desfechos clínicos como recorrência/recrescimento, tampouco a cura/redução tumoral. Invasão infra-selar e extensão supra-selar em qualquer grau também não se mostraram como bons marcadores prognósticos em relação ao desfecho clínico. Ainda, houve uma tendência ($p = 0,0577$) em associar a ausência de extensão supra-selar para 3º ventrículo/parênquima cerebral adjacente a maior chance de estabilidade volumétrica tumoral após tratamento (Tabela 7).

Tabela 7 – Características clínicas e radiológicas e evolução tumoral.

Características clínicas e radiológicas ao diagnóstico	Desfecho clínico			p-valor*
	Recrescimento/ Recorrência (%) (n=17)	Estabilidade (%) (n=13)	Redução/Cura (%) (n=20)	
Sexo				0.399
Masculino	6 (35)	8 (62)	10 (50)	
Feminino	11 (65)	5 (38)	10 (50)	
Idade (anos)	34 ± 19	40 ± 12	32 ± 17	0.419‡
Diâmetro (mm)	44.5 ± 13.9	37.8 ± 13.2	49.4 ± 12.1	0.052‡
< 30 mm	0 (0)	2 (15)	0 (0)	0.073
30-40 mm	7 (41)	3 (23)	4 (20)	
> 40 mm	10 (59)	8 (62)	16 (80)	
Invasão				
Para-selar				0.038
Não	1 (6) [-1]	5 (38) [3]	2 (10) [-1]	
Sim	16 (94) [1]	8 (62) [-3]	18 (90) [1]	
Infra-selar				0.552
Não	5 (29)	2 (15)	3 (15)	
Sim	12 (71)	11 (85)	17 (85)	
Extensão				
Supra-selar				0.2600
Não	0 (0)	1 (8)	0 (0)	
Sim	17 (100)	12 (92)	20 (100)	
3º ventrículo				0.0577
Não	6 (35)	8 (62)	4 (20)	
Sim	11 (65)	5 (38)	16 (80)	

Valores expressos em média ± desvio-padrão ou frequência (%) e [Resíduo de Pearson].

* p-valor calculado pelos testes qui-quadrado de Pearson e ANOVA ‡.

Dentre os tumores que apresentaram recrescimento/recorrência, os mais prevalentes foram os adenomas clinicamente do tipo *null cell* (35%). O mesmo tipo tumoral também foi o mais frequente (61%) dentre as lesões que evoluíram com estabilidade volumétrica. Já o tipo tumoral que apresentou maior prevalência de cura/redução volumétrica foi o somatotropinoma (45%). Entretanto, não houve diferença estatística significativa entre os tipos tumorais, segundo secreção hormonal, quanto ao desfecho clínico ($p = 0,2193$) (Tabela 8).

Houve associação estatística significativa entre a imunexpressão do marcador de proliferação p53 e os graus de evolução clínica tumoral ($p = 0,0035$). Foi observado que sua expressão em índices de alto potencial proliferativo ($\geq 3+$) estava associada a recrescimento/recorrência tumoral [Resíduo de Pearson = +2]. Já a imunexpressão de p53 em índices de baixo potencial proliferativo ($< 3+$) esteve relacionada a estabilidade volumétrica tumoral [Resíduo de Pearson = +3], mas não a cura/redução tumoral [Resíduo de Pearson = -1] (Tabela 8). A expressão dos outros marcadores avaliados, Ki-67 e c-erbB2, não apresentaram relação significativa com comportamento evolutivo dos adenomas.

Conforme detalhado na Tabela 8, adenomas invasivos e não-invasivos, quando comparados, não apresentaram diferença estatística significativa quanto a evolução clínica ($p = 0,5155$). Todavia, tumores classificados como não-proliferativos apresentaram maior prevalência em manter estabilidade volumétrica ($p = 0,0145$) [Resíduo de Pearson = +3], independente de serem invasivos (grau 2A) ou não (grau 1A) ($p = 0,0127$) [Resíduo de Pearson = +2]. Ainda, adenomas proliferativos estavam mais associados a recrescimento/recorrência tumoral ($p = 0,0145$) [Resíduo de Pearson = +2], especialmente aqueles classificados como invasivos e proliferativos (grau 2B) ($p = 0,0127$) [Resíduo de Pearson = +2].

As intervenções terapêuticas influenciaram significativamente o desfecho clínico ($p = 0,0272$). Estabilidade volumétrica tumoral esteve estatisticamente associada a realização de cirurgia seguida de radioterapia [Resíduo de Pearson = +2]. Ainda, cura/redução tumoral foi alcançada significativamente quando empregada cirurgia combinada a tratamento medicamentoso [Resíduo de Pearson = +3]. Todavia, recorrência/recrescimento tumoral apresentou maior prevalência no grupo submetido

a cirurgia combinada a farmacoterapia e radioterapia pós-operatória [Resíduo de Pearson = +2]. Nesses casos, por conta do comportamento agressivo tumoral, o tratamento multimodal não foi capaz de alterar o prognóstico da doença.

Tabela 8 – Características imunohistoquímicas, classificação e evolução tumoral.

	Desfecho clínico			<i>p</i> -valor*
	Recrescimento/ Recorrência (%) (n=17)	Estabilidade (%) (n=13)	Redução/Cura (%) (n=20)	
Características imunohistoquímicas				
Expressão hormonal				0.2193
GH	3 (18)	2 (15)	9 (45)	
PRL	3 (18)	1 (8)	4 (20)	
ACTH	2 (11)	1 (8)	0 (0)	
LH/FSH	3 (18)	1 (8)	3 (15)	
<i>Null Cell</i>	6 (35)	8 (61)	4 (20)	
p53				0.0035
< 3+	3 (18) [-2]	10 (77) [3]	6 (33) [-1]	
≥ 3+	14 (82) [2]	3 (23) [-3]	12 (67) [1]	
Ki-67				0.2329
< 2+	11 (65)	11 (85)	10 (56)	
≥2+	6 (35)	2 (15)	8 (44)	
c-erbB2				0.7118
< 2+	4 (25)	5 (38)	6 (35)	
≥ 2+	12 (75)	8 (62)	11 (65)	
Classificação				
Anatômica				0.5155
Não-invasivo	1 (6)	2 (15)	0 (0)	
Invasivo	16 (94)	11 (85)	20 (100)	
Patológica				0.0145
Não-proliferativo	4 (24) [-2]	10 (77) [3]	9 (45) [0]	
Proliferativo	13 (76) [2]	3 (23) [-3]	11 (55) [0]	
Clínico-patológica				0.0127
Graus				
1A	0 (0) [-1]	2 (15) [2]	0 (0) [-1]	
1B	1 (6) [1]	0 (0) [-1]	0 (0) [-1]	
2A	4 (24) [-2]	8 (62) [2]	9 (45) [0]	
2B	12 (70) [2]	3 (23) [-2]	11 (55) [0]	

Valores expressos em média ± desvio-padrão ou frequência (%) e [Resíduo de Pearson].

* *p*-valor calculado pelo teste qui-quadrado de Pearson.

5.6 Aplicação dos Sistemas de Informações Geográficas (SIGs)

A maioria dos pacientes (88%) avaliados nesse estudo era procedente do Distrito Federal e adjacências. Foi constatado que 6 (12%) dos pacientes eram originários de outras regiões do País, a saber: 2 (4%) de outra região de Goiás, 2 (4%) de Minas Gerais, 1 (2%) do Piauí e 1 (2%) da Paraíba (Figura 3).

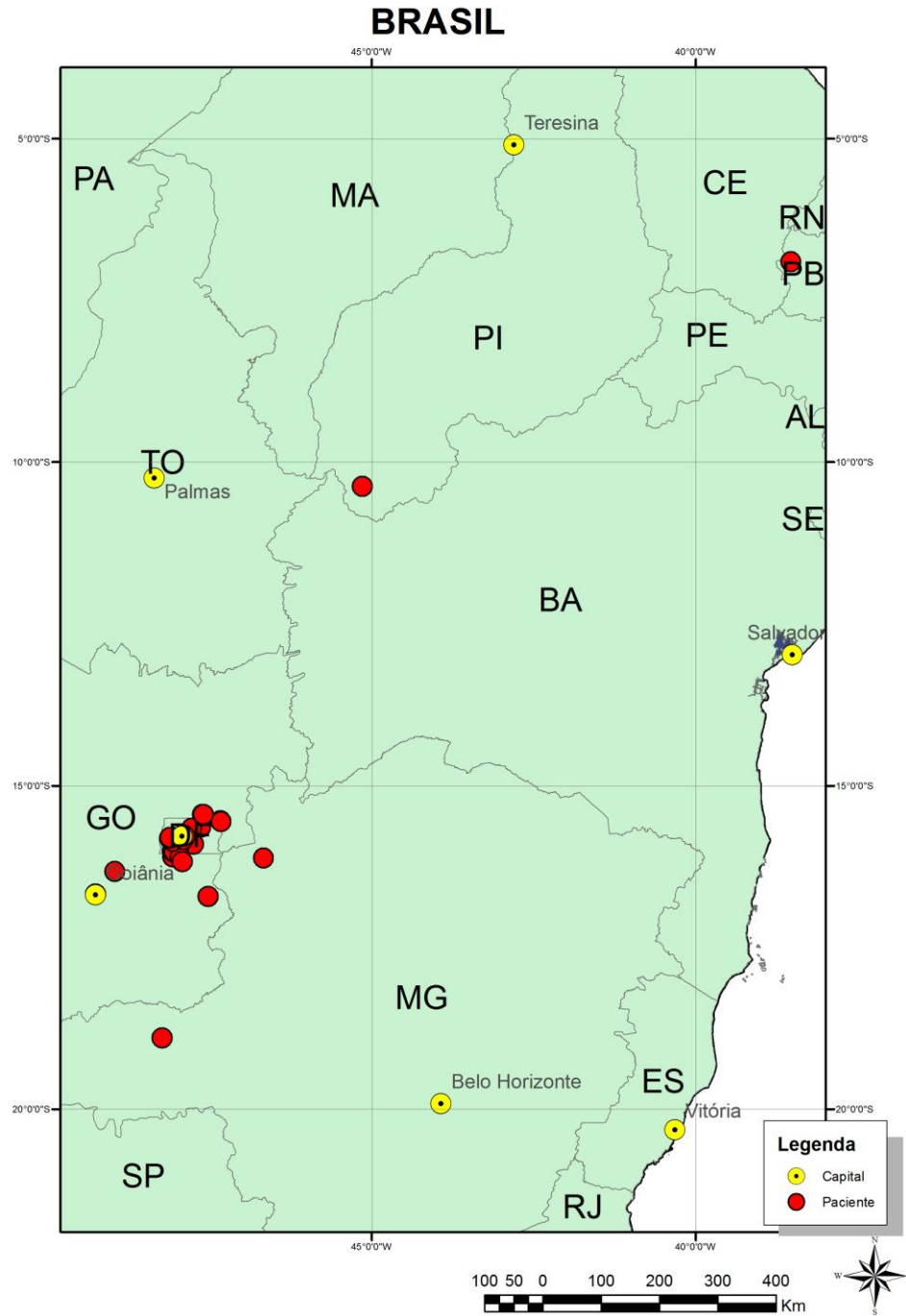


Figura 3 – Distribuição de pacientes por Unidades da Federação.
Escala do mapa: 1:10.000.000
Software: ArcGIS – version 9.3, ESRI, Redlands, CA.

Foi observada a distribuição geográfica dos pacientes, baseado em seus endereços residenciais, de acordo com o volume tumoral apresentado ao diagnóstico. Foi verificado que os adenomas hipofisários com diâmetros maiores que 40 milímetros se concentraram prioritariamente nas regiões sul e oeste do Distrito Federal e no seu entorno. Adenomas com menos de 30 milímetros de diâmetro apresentaram maior frequência em regiões mais próximas ou de mais fácil acesso ao centro médico de referência (Hospital Universitário de Brasília – HUB). Já adenomas com diâmetro entre 30 e 40 milímetros não apresentaram diferença de prevalência geográfica (Figura 4).

Utilizando o método de otimização de Jenks, que permite melhores ajuste de variância e distribuição de valores de dados em diferentes classes por intervalos naturais, observou-se que 60% dos pacientes apresentaram diâmetro máximo tumoral ao diagnóstico entre 40 e 60 milímetros. Por sua vez, os tumores com diâmetro entre 61 e 74 milímetros perfaziam 12% da amostra e 28% dos pacientes cursaram com lesões menores que 40 milímetros na ocasião do diagnóstico (Figura 5).

Não houve agrupamentos geográficos inesperados de pacientes segundo as classificações volumétrica tumoral convencional e de Jenks na amostra avaliada.

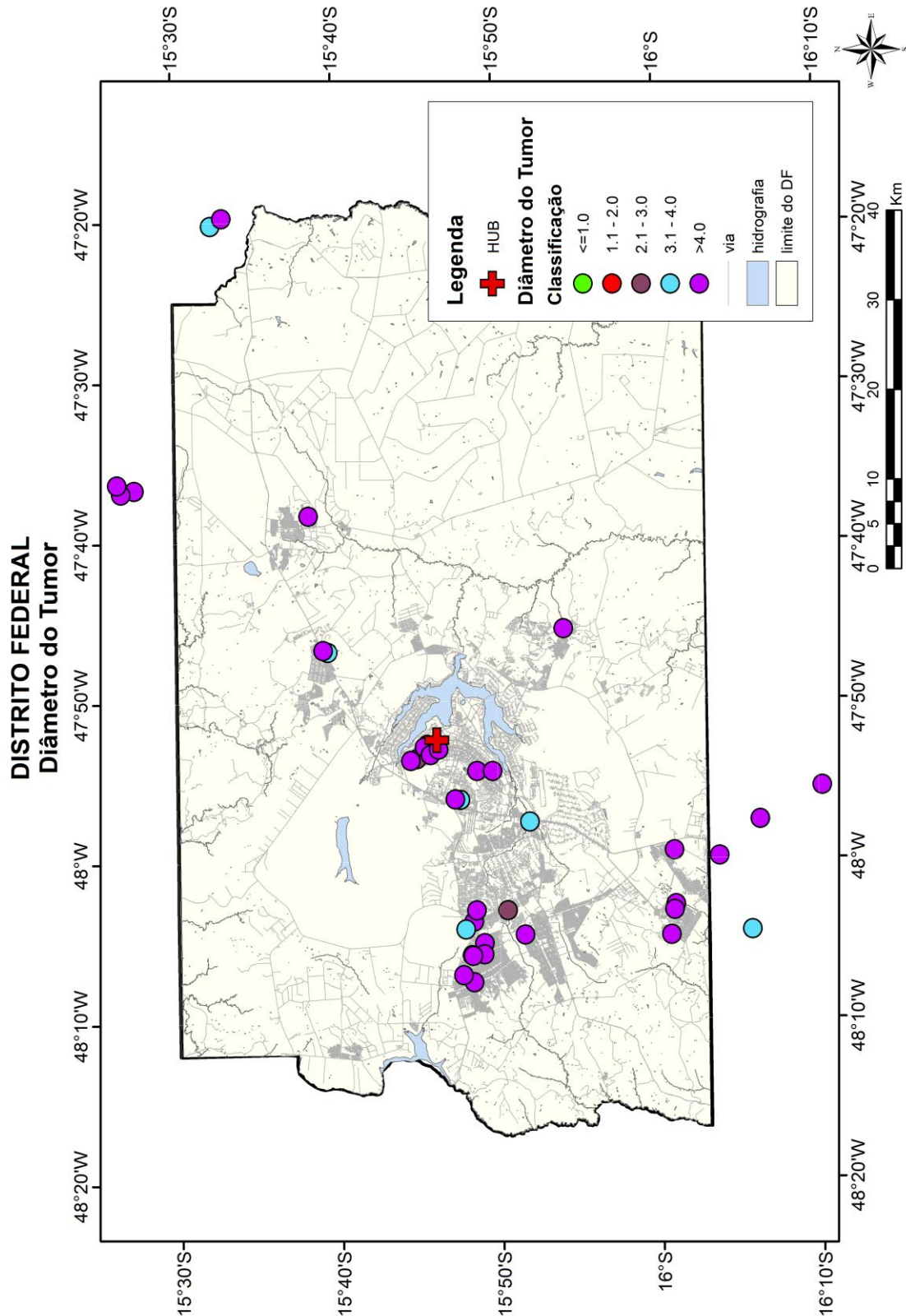


Figura 4 – Distribuição geográfica dos pacientes no Distrito Federal de acordo com volume tumoral inicial, em centímetros. Intervalo de classificação: 1,0 centímetro. Centro médico de referência (cruz vermelha). Escala do mapa: 1:300.000. Software: ArcGIS – version 9.3, ESRI, Redlands, CA

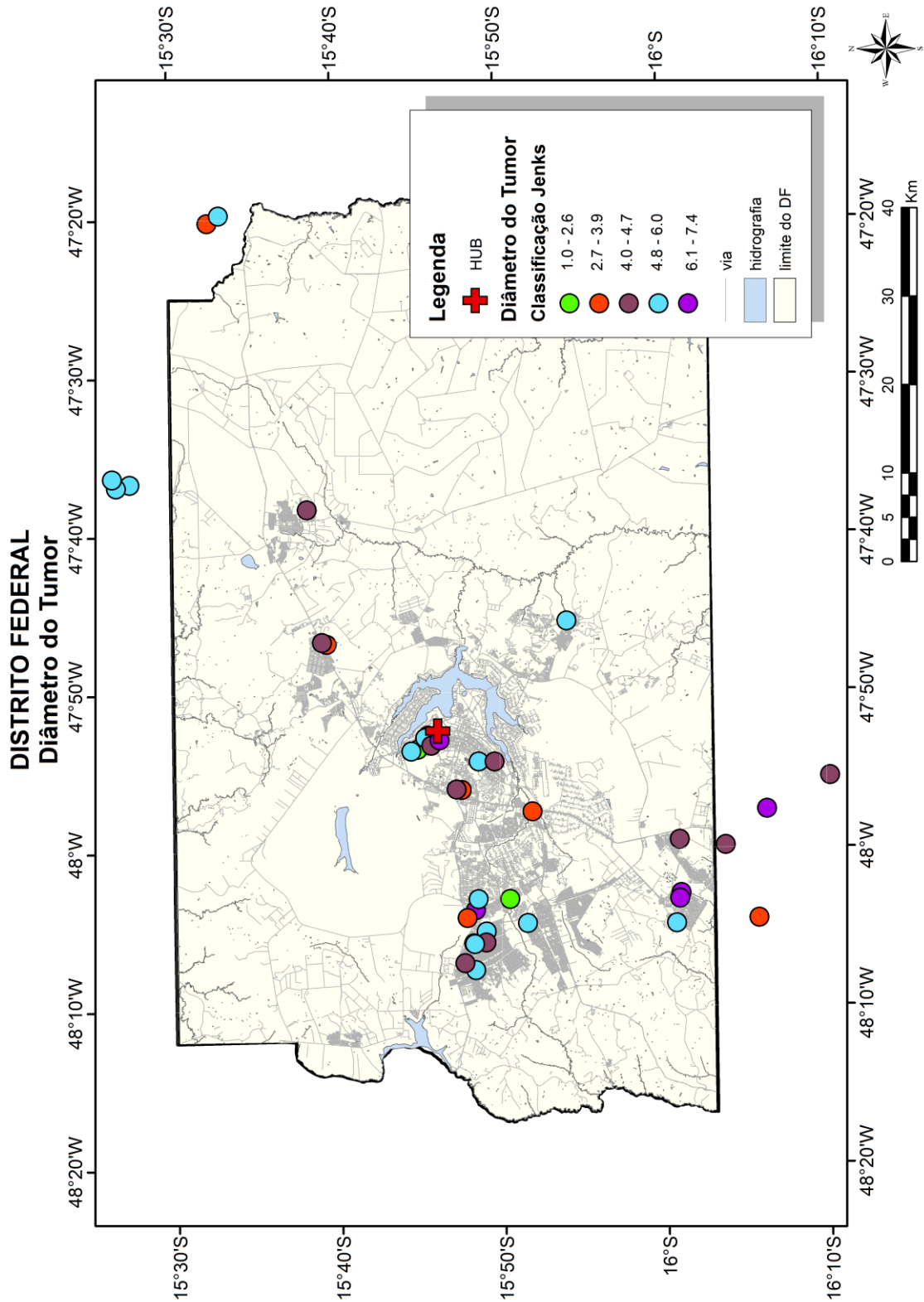


Figura 5 – Distribuição geográfica dos pacientes no Distrito Federal de acordo com volume tumoral inicial, em centímetros, utilizando classificação de Jenks. Centro médico de referência (cruz vermelha). Escala do mapa: 1:300.000. Software: ArcGIS – version 9.3, ESRI, Redlands, CA

Em relação à análise geográfica, o Distrito Federal foi segmentado em zonas-tampões correspondentes a distâncias radiais a partir do centro médico de referência (Hospital Universitário de Brasília - HUB). Foram delimitadas quatro zonas com intervalos de 25 quilômetros radiais entre as mesmas e representadas por cores diferentes. A partir disso, foi verificada a distribuição geográfica, pelas zonas-tampões, dos pacientes de acordo com a classificação clínico-patológica tumoral.

Conforme verificado na Figura 6, o grupo de pacientes residentes a menos de 25 quilômetros do centro médico de referência (HUB) estava assim composto, segundo classificação clínico-patológica: 1A = 5%; 1B = 5%; 2A = 33%; 2B = 57%. Pacientes residentes entre 26-50 quilômetros do HUB: 2A = 67%; 2B = 33%. Pacientes residentes entre 51-75 quilômetros do HUB: 2A = 50%; 2B = 50%. Pacientes residentes a mais de 75 quilômetros do HUB: 1A = 10%; 2A = 10%; 2B = 80%.

Não foram observados agrupamentos geográficos inesperados de pacientes segundo a classificação clínico-patológica proposta neste estudo, bem como não houve associação resultante entre a graduação tumoral e a distância até o centro médico de referência onde os pacientes eram acompanhados.

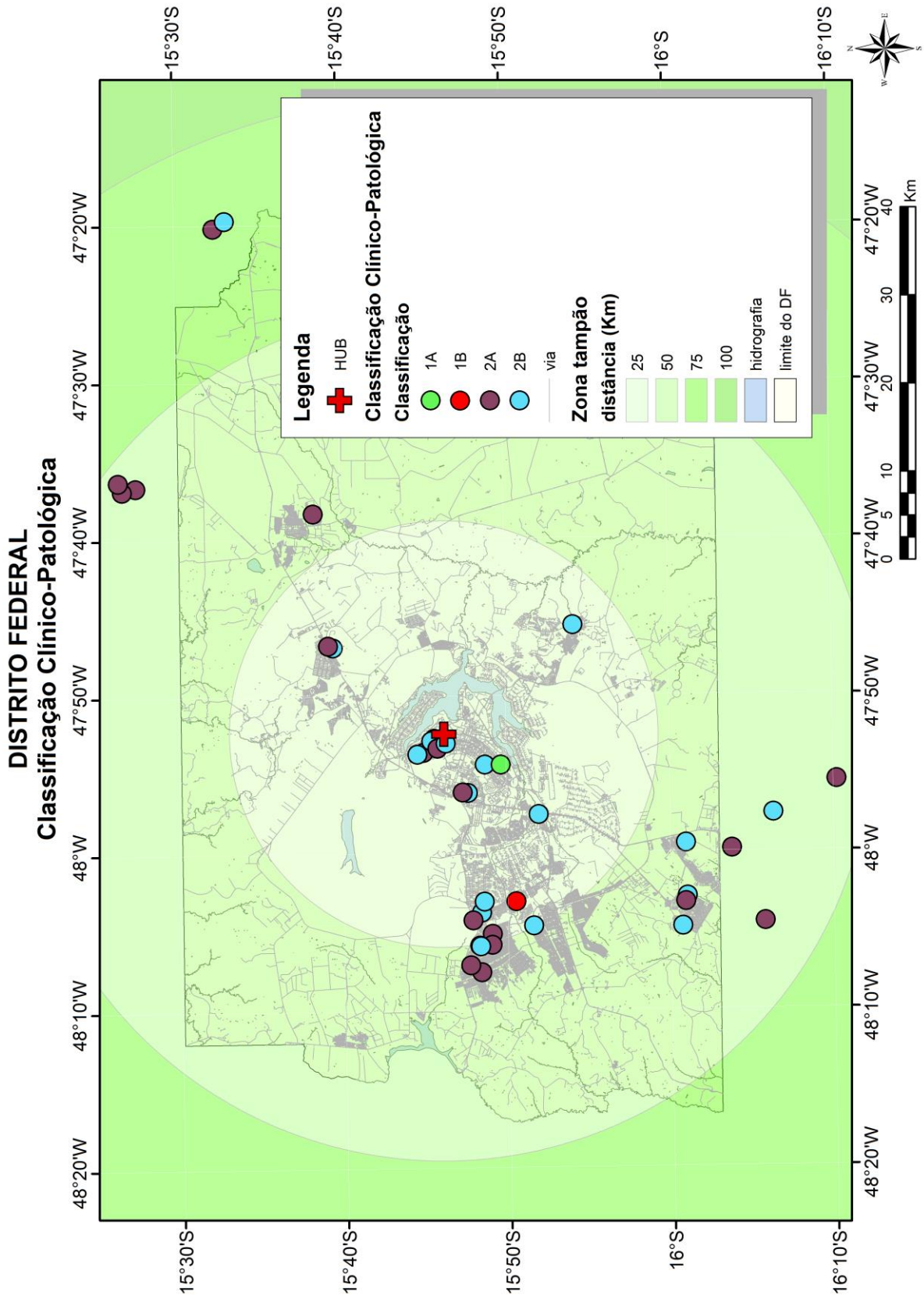


Figura 6 - Distribuição Geográfica dos pacientes, em zonas-tampões, de acordo com classificação clínico-patológica. Distância das residências dos pacientes até o centro médico de referência (cruz vermelha) representada em quatro zonas com intervalos de 25Km. Escala do mapa: 1:300.000. Software: ArcGIS – version 9.3, ESRI, Redlands, CA

6 DISCUSSÃO

A busca por marcadores com potencial valor na predição do comportamento evolutivo de tumores, continua um grande desafio clínico. Os marcadores de proliferação celular podem refletir o potencial de agressividade dos adenomas hipofisários por determinar a taxa de multiplicação das células neoplásicas locais. A determinação do número de mitoses tem valor limitado nesse contexto, pois mesmo os adenomas com comportamento agressivo apresentam mitoses ocasionais¹⁰⁸, onde o atraso na fixação do tecido tumoral, as variações intra e inter-observador e devido a etapas do processo apoptótico mimetizarem mitoses, há prejuízo na acurácia diagnóstica.¹⁹⁷ Por conta disso, no presente estudo, foram avaliados também como parâmetros prognósticos os biomarcadores p53, Ki-67 e c-erbB2, mas não a contagem de mitoses por campo.

A expressão de p53 pode estar associada a características invasivas dos tumores hipofisários. Thapar et al.¹⁰⁶ demonstraram associação significativa entre a expressão de p53 e invasão tumoral, onde a marcante imunexpressão desse biomarcador esteve presente em 15% dos adenomas invasivos, em 100% dos carcinomas hipofisários, mas em nenhum dos adenomas não-invasivos. Na amostra analisada do atual estudo, em que 60% dos adenomas apresentaram forte imunodeteção de p53 (positividade $\geq 25\%$ das células = 3+), observou-se clara associação com, somente, a presença de extensão supra-selar avançada (grau 4 – Classificação de Edal⁸⁵) ($p = 0,013$). Todavia, não se conseguiu demonstrar tal correlação com a presença de sinais clássicos de invasão (infra e para-selar) tumoral hipofisária, o que também foi observado em estudos prévios.¹⁹⁸

Ozer et al.¹⁹⁹ observaram que elevada expressão de p53 esteve associada a recidiva tumoral local, sugerindo que o biomarcador fosse um indicador independente de progressão tumoral. Em nossa casuística, foi observada também correlação entre o status de imunodeteção de p53 e o desfecho clínico, onde os tumores com forte imunexpressão apresentaram maiores taxas de recorrência/recrescimento ($p = 0,0035$). Estes achados coincidem com os de estudos anteriores^{92,108} relativos a agressividade e intervalo de recorrência local do tumor. No entanto, outros estudos não demonstraram essa correlação, levantando dúvidas sobre p53 como um

marcador independente confiável de recorrência.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Além disso, existem limitações técnicas relacionadas à validação metodológica da sua quantificação.^{106,112}

A maioria dos adenomas hipofisários apresenta expressão de Ki-67 entre 1-2%, enquanto que valores > 3% são incomuns.²⁰⁰ O índice de expressão de Ki-67 > 3% pode prever o comportamento agressivo, bem como distinguir adenomas invasivos de não-invasivos com 97% de especificidade e 73% de sensibilidade.⁸¹ No presente estudo, o nível de corte para potencial de alto índice proliferativo foi estabelecido em 10% (2+), pois é sugerida que a expressão de Ki-67 acima desse valor leva a maior suspeição de malignidade e, em consequência, agressividade tumoral²⁰¹, mas que também pode fazer diminuir a sensibilidade na predição de recorrência.^{202,203} Estudos prévios publicados por nosso grupo de pesquisas validaram esse ponto de corte em estudos com diferentes tipos de adenomas hipofisários.^{134,135}

Dentre os adenomas estudados na nossa casuística, 33% apresentaram expressão de Ki-67 > 10% e não houve associação significativa entre a expressão deste biomarcador e os parâmetros de invasão/extensão tumoral e o desfecho clínico. Estes achados estão em acordo com estudos previamente publicados.^{105,107,204-206} Assim, apesar do Ki-67 ser extensamente empregado como biomarcador em várias neoplasias neuroendócrinas²⁰⁷, sua utilização em tumores hipofisários continua controversa, devido à heterogeneidade dos estudos, à falta de padronização técnica e aos resultados discrepantes existentes. Portanto, são necessários protocolos para reprodutibilidade metodológica e definição consensual do valor de corte do índice de expressão de Ki-67.^{104,105}

O proto-oncogene c-erbB2 é um codificador da família dos receptores do fator de crescimento epidermal (EGFR) e foi observada sua expressão em variáveis proporções em 40% de adenomas hipofisários invasivos e somente em 1,2% das lesões não-invasivas.¹³² Em estudos prévios conduzidos pelo Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário de Brasília, verificou-se a presença de expressão de c-erbB2 em 79% dos adenomas clinicamente não-funcionantes¹³⁴ e em 52% dos adenomas secretores de GH e/ou prolactina.¹³⁵ Pela alta prevalência em nosso meio e por haver, então, indícios de hiperexpressão de c-erbB2 em neoplasias hipofisárias com sinais agressividade e recorrência^{208,209}, esta oncoproteína foi analisada quanto ao seu papel na tumorigênese hipofisária. No presente estudo, 67%

dos adenomas avaliados apresentaram pelo menos moderada expressão de c-erbB2 em > 10% das células ($\geq 2+$). Contudo, não foi possível demonstrar qualquer associação independente entre a expressão de c-erbB2 e os parâmetros de invasão/extensão e desfecho clínico tumoral ao longo do período de avaliação.

No presente estudo, em que a amostra foi composta por 36% de adenomas *null cell*, 14% de gonadotropinomas, 6% de corticotropinomas silenciosos, 28% de somatotropinomas e 16% de prolactinomas, houve correlação significativa ($p = 0,0186$) com o tipo de intervenção terapêutica empregada, principalmente em relação aos adenomas secretores de GH e prolactina (cirurgia associada a tratamento medicamentoso) e *null cell* (cirurgia associada a radioterapia adjuvante). Por sua vez, não foi observada associação entre o perfil de expressão hormonal à imunohistoquímica e o comportamento clínico tumoral ao longo do período de seguimento. Como perspectiva futura e já proposto em estudos prévios^{91,99,210}, a subclassificação histológica tumoral pode ser uma ferramenta adicional na predição de desfecho clínico, já que somatotropinomas esparsamente granulados, prolactinomas densamente granulados, corticotropinomas esparsamente granulados, tireotropinomas, adenomas de células de Crooke, adenomas acidófilos de células-tronco, adenomas silenciosos – subtipo 3 e adenomas do tipo *null cell* apresentam correlação com comportamento agressivo.

Na casuística ora analisada, os adenomas de hipófise apresentaram média de diâmetro máximo inicial de $44,7 \pm 13,6$ milímetros, sendo 12% menores que 30 milímetros, 20% entre 30 e 40 milímetros e 68% maiores que 40 milímetros. A correlação entre volume tumoral e atividade proliferativa não é bem definida.^{104,211,212} Até mesmo em adenomas gigantes, o número de mitoses e a expressão de biomarcadores como p53 e Ki-67 estiveram discretamente aumentados.²¹¹⁻²¹³ Tais dados estão em concordância com os observados no atual estudo, onde houve correlação significativa entre diâmetro tumoral inicial e expressão de Ki-67 ($p = 0,009$), mas não com de p53 e c-erbB2. Ainda, não foi possível detectar impacto do volume tumoral inicial sobre as estratégias terapêuticas empregadas e desfecho clínico, conforme já observado anteriormente.²¹⁴

Considerando os aspectos radiológicos, 94% dos adenomas estudados foram classificados como invasivos. Na proposta de classificação clínico-patológica proposta

por Trouillas et al.⁷⁹, eram considerados sinais de invasão, os sinais radiológicos de invasão para seios cavernosos ou seio esfenoidal. Conforme proposto na metodologia do estudo, foi também considerado invasivo o tumor que apresentou maior contato com o terceiro ventrículo e parênquima cerebral adjacente, causando hidrocefalia obstrutiva (extensão supra-selar grau 4 - classificação de Edal⁸⁵), com a intenção de testar a hipótese de que a presença deste tipo de sinal de progressão tumoral pudesse impactar no desfecho clínico. Observamos uma tendência em associar a ausência de extensão supra-selar avançada à maior probabilidade de estabilidade tumoral e menor chance de recorrência ($p = 0,0577$). Em particular, estes dados trazem informações originais sugerindo que a presença de sinais de extensão supra-selar avançada, e também por exibir associação com forte expressão de marcadores de proliferação, deva realmente ser considerada como um parâmetro/critério adicional de invasão tumoral.

A estabilidade volumétrica tumoral pós-tratamento inicial apresentou correlação com ausência de invasão para-selar ($p = 0,0389$). Enquanto isso, adenomas com sinais de invasão infra-selar necessitaram de tratamento multimodal ($p = 0,0219$), o que indica difícil manejo terapêutico. As referidas informações obtidas neste estudo estão de acordo com os dados de estudos que sugerem que o principal fator relacionado a previsão de status livre de doença ⁷⁹, potencialidade de remoção cirúrgica tumoral maciça ²¹⁵ e recorrência/progressão tumoral ²⁰² é a presença de sinais de invasão tumoral.

Diante do exposto, fica evidente que não há um único aspecto morfológico e histológico que sirva como marcador independente e confiável para predição do comportamento tumoral hipofisário.⁹⁰ Alguns estudos recentes ^{91,150} questionaram a classificação de adenomas vigente atualmente e propuzeram algumas estratégias diagnósticas, que combinem características clínicas, radiológicas, morfológicas, histológicas e moleculares no intuito de melhor diferenciar tumores hipofisários típicos de agressivos e potencialmente malignos. No presente estudo, os tumores hipofisários foram classificados com base em uma combinação de parâmetros de invasão e marcadores de proliferação, a fim de avaliar o impacto prognóstico e comportamento tumoral e obter um sistema de classificação confiável. Nossos resultados não demonstraram correlação entre o desfecho clínico e a classificação dos tumores em invasivos e não-invasivos de modo geral ($p = 0,5155$). Talvez, uma perspectiva para

melhor indicação prognóstica, seja subclassificar os adenomas de hipófise com sinais invasão circunscrita em somente um sítio e em dois ou mais sítios (por exemplo: invasão seio cavernoso e seio esfenoidal, ou invasão bilateral de seios cavernosos), haja vista a maior dificuldade em controlar a doença neste último subgrupo.⁹¹

Embora apenas a expressão de p53 tenha exibido associação independente com o comportamento clínico tumoral, os adenomas classificados como proliferativos, de acordo com o proposto neste estudo, apresentaram pior prognóstico ($p = 0,0145$). Tal dado reforça que a avaliação diagnóstica imunohistoquímica deva ser realizada com no mínimo mais de um biomarcador, a fim de melhorar a sensibilidade na predição prognóstica dos tumores hipofisários.^{91,200} Por fim, os tumores invasivos-proliferativos, ora classificados como 2B, apresentaram correlação significativa com a taxa de recrescimento/recorrência ($p = 0,0127$), corroborando que tais lesões devem ser consideradas como potencialmente suspeitas de evolução desfavorável.^{79,216}

A análise dos parâmetros epidemiológicos e clínicos demonstrou relação inversa significativa entre idade dos pacientes ao diagnóstico e intensidade de expressão dos biomarcadores p53 ($p = 0,021$) e Ki-67 ($p < 0,001$). Ainda, foi também observada uma forte correlação entre idade mais precoce dos pacientes ao diagnóstico e a intensidade e multimodalidade do tratamento empregado ($p = 0,0008$). Tais fatos citados poderiam justificar e corroborar uma pior evolução clínica tumoral nos pacientes de menor faixa etária, sendo que alguns destes pertenciam ao grupo de adenomas hipofisários familiares isolados (FIPA). Apesar de vários estudos terem descrito que o comportamento agressivo tumoral hipofisário em idades mais precoces possa estar relacionado a síndromes genéticas como NEM-1, mutações de AIP e Síndrome X-LAG^{13,74,217}, em nossa casuística não houve correlação entre idade ao diagnóstico e o desfecho clínico ao longo do período avaliado.

No que diz respeito ao georreferenciamento por meio da dos SIG's, foi recentemente publicado pelo nosso grupo de pesquisas e primeiramente validado o uso deste método para avaliar o padrão de distribuição geográfica de pacientes com acromegalia na região central do Brasil.¹³ O Distrito Federal é uma área administrativa, com baixa concentração de fontes ambientais de elementos tóxicos a saúde. A grande maioria dos pacientes habita em área urbana, que inclui principalmente pequenos edifícios de apartamentos e casas e nenhum deles trabalhou anteriormente em

indústrias ou grandes fazendas. Assim, a população descrita neste estudo foi homogeneamente urbana, com as condições sócio-culturais comparáveis. Com isso, não foram identificados fatores ambientais que podem ter impactado sobre o comportamento tumoral ao longo do tempo de seguimento médico. Ademais, não foram encontrados agrupamentos populacionais de acordo com as características anatômicas e imunohistoquímicas tumorais, bem como, a classificação clínico-patológica proposta. Portanto, no presente estudo, foi comprovado também que não houve associação entre os dados geográficos analisados e desfecho clínico durante o período de avaliação.

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que:

- A avaliação retrospectiva demonstrou que os fatores que impactaram no comportamento agressivo no período pós-operatório tardio dos adenomas hipofisários foram a presença de sinais de invasão para-selar e extensão supra-selar avançada (contato íntimo com o terceiro ventrículo e parênquima cerebral adjacente) e forte imunoexpressão do marcador p53. Quando associados os parâmetros de invasão e proliferação, os adenomas hipofisários que revelaram comportamento agressivo foram aqueles classificados como invasivos-proliferativos (grau 2B).
- A elevada expressão de p53 apresentou-se como indicador independente de recrescimento/recorrência nos tumores hipofisários. O marcador Ki-67 ainda apresenta discrepâncias quanto a confiabilidade e valor prognóstico das neoplasias hipofisárias. A onco-proteína c-erbB2 aparentemente não exerce influência como marcador de proliferação nos adenomas hipofisários.
- Os sinais de invasão para e infra-selar confirmaram-se como importantes preditores do comportamento de neoplasias hipofisárias, seja pela correlação com recidiva tumoral, ou pela demanda por tratamento multimodal. Nosso estudo propõe que a presença de sinais de extensão supra-selar avançada, por se correlacionar com comportamento tumoral agressivo e, também, com forte expressão de p53, seja incluída como um parâmetro/critério adicional de invasão tumoral.
- Por meio do georeferenciamento não foi possível estabelecer uma correlação conclusiva entre o comportamento tumoral hipofisário e fatores ambientais locais, porém os resultados deste estudo podem fornecer orientações futuras para compreensão dos aspectos ambientais que possam afetar a patogênese das neoplasias hipofisárias. Os Sistemas de Informação Geográfica são uma ferramenta útil para identificar padrões de ocorrências em saúde e para melhorar regionalmente as redes de assistência médica.

- Diante do exposto, fica evidente que não há um único aspecto clínico, morfológico e histopatológico que sirva como marcador independente para predição do comportamento tumoral hipofisário. Assim, devem ser propostas ferramentas diagnósticas, que combinem tais características citadas, no intuito de melhor diferenciar tumores hipofisários típicos de agressivos e potencialmente malignos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Kovacs K, Horvath E. Pathology of pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1987 Sep;16(3):529-51. Review. PubMed PMID: 3319594.
- 2 Central Brain Tumor Registry of the United States 2007-2008. Central Brain Tumor Registry of the United States Statistical Report, 2008.
- 3 Jefferson G. Extrasellar Extensions of Pituitary Adenomas: (Section of Neurology). *Proc R Soc Med.* 1940 May;33(7):433-58. PubMed PMID: 19992234
- 4 Jefferson G. The invasive adenomas of the anterior pituitary. Ed 2. Springfield, Charles C. Thomas 1972, 56-60.
- 5 Buchfelder M. Management of aggressive pituitary adenomas: current treatment strategies. *Pituitary.* 2009;12(3):256-60. doi: 10.1007/s11102-008-0153-z. Review. PubMed PMID: 19003540
- 6 McCormack AI, Wass JA, Grossman AB. Aggressive pituitary tumours: the role of temozolomide and the assessment of MGMT status. *Eur J Clin Invest.* 2011 Oct;41(10):1133-48. doi: 10.1111/j.1365-2362.2011.02520.x. Epub 2011 Apr 18. PubMed PMID: 21496012
- 7 Raverot G, Castinetti F, Jouanneau E, Morange I, Figarella-Branger D, Dufour H, Trouillas J, Brue T. Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumours: merits and pitfalls of temozolomide treatment. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012 Jun;76(6):769-75. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04381.x. Review. PubMed PMID: 22404748.
- 8 Lloyd, R. V. *et al.* in *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs* (eds DeLellis, R. A. et al.) 10–13 (IARC Press, 2004).
- 9 Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML, McCutcheon IE. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer.* 2004 Aug 1;101(3):613-9. Review. PubMed PMID: 15274075
- 10 Asa SL, Ezzat S. The pathogenesis of pituitary tumors. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:97-126. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092259. Review. PubMed PMID: 19400692
- 11 Aflorei ED, Korbonits M. Epidemiology and etiopathogenesis of pituitary adenomas. *J Neurooncol.* 2014 May;117(3):379-94. doi: 10.1007/s11060-013-1354-5. Epub 2014 Jan 31. Review. PubMed PMID: 24481996
- 12 Daly AF, Rixhon M, Adam C, Dempegioti A, Tichomirowa MA, Beckers A. High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Dec;91(12):4769-75. Epub 2006 Sep 12. PubMed PMID: 16968795
- 13 Naves LA, Porto LB, Rosa JW, Casulari LA, Rosa JW. Geographical information system (GIS) as a new tool to evaluate epidemiology based on spatial analysis and clinical outcomes in acromegaly. *Pituitary.* 2015 Feb;18(1):8-15. doi: 10.1007/s11102-013-0548-3. PubMed PMID: 24368684
- 14 Scheithauer, B. W. *et al.* in *Pituitary Carcinoma* (eds DeLellis, R. A. et al.). 36–39 (IARC Press, 2004).
- 15 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 Feb;156(2):203-16. Review. PubMed PMID: 17287410
- 16 Scheithauer BW, Kovacs KT, Laws ER Jr, Randall RV. Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J Neurosurg.* 1986 Dec;65(6):733-44. PubMed PMID: 3095506
- 17 Meij BP, Lopes MB, Ellegala DB, Alden TD, Laws ER Jr. The long-term significance of microscopic dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transsphenoidal surgery. *J Neurosurg.* 2002 Feb;96(2):195-208. PubMed PMID: 11838791
- 18 Kaltsas GA, Nomikos P, Kontogeorgos G, Buchfelder M, Grossman AB. Clinical review: Diagnosis and management of pituitary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 May;90(5):3089-99. Epub 2005 Mar 1. Review. PubMed PMID: 15741248
- 19 Potter VR. Initiation and promotion in cancer formation: the importance of studies on intercellular communication. *Yale J Biol Med.* 1980 Sep-Oct;53(5):367-84. Review. PubMed PMID: 7013284
- 20 Clayton RN, Pfeifer M, Atkinson AB, Belchetz P, Wass JA, Kyrodimou E, Vanderpump M, Simpson D, Bicknell J, Farrell WE. Different patterns of allelic loss (loss of heterozygosity) in recurrent human pituitary tumors provide evidence for multiclonal origins. *Clin Cancer Res.* 2000 Oct;6(10):3973-82. PubMed PMID: 11051246
- 21 Spada A, Vallar L. G-protein oncogenes in acromegaly. *Horm Res.* 1992;38(1-2):90-3. Review. PubMed PMID: 1306524
- 22 Levy A, Lightman S. Molecular defects in the pathogenesis of pituitary tumours. *Front Neuroendocrinol.* 2003 Apr;24(2):94-127. Review. PubMed PMID: 12763000
- 23 Tada M, Kobayashi H, Moriuchi T. Molecular basis of pituitary oncogenesis. *J Neurooncol.* 1999;45(1):83-96. Review. PubMed PMID: 10728913
- 24 Cai WY, Alexander JM, Hedley-Whyte ET, Scheithauer BW, Jameson JL, Zervas NT, Klibanski A. ras mutations in human prolactinomas and pituitary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994 Jan;78(1):89-93. PubMed PMID: 8288721
- 25 Karga HJ, Alexander JM, Hedley-Whyte ET, Klibanski A, Jameson JL. Ras mutations in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 Apr;74(4):914-9. PubMed PMID: 1312542
- 26 Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971 Apr;68(4):820-3. PubMed PMID: 5279523
- 27 Woloschak M, Yu A, Xiao J, Post KD. Abundance and state of phosphorylation of the retinoblastoma gene product in human pituitary tumors. *Int J Cancer.* 1996 Jul 3;67(1):16-9. PubMed PMID: 8690518
- 28 Wierinckx A, Roche M, Raverot G, Legras-Lachuer C, Croze S, Nazaret N, Rey C, Auger C, Jouanneau E, Chanson P, Trouillas J, Lachuer J. Integrated genomic profiling identifies loss of chromosome 11p impacting transcriptomic activity in aggressive pituitary PRL tumors. *Brain Pathol.* 2011 Sep;21(5):533-43. doi: 10.1111/j.1750-3639.2011.00476.x. Epub 2011 Feb 23. PubMed PMID: 21251114

- 29 Jacks T, Fazeli A, Schmitt EM, Bronson RT, Goodell MA, Weinberg RA. Effects of an Rb mutation in the mouse. *Nature*. 1992 Sep 24;359(6393):295-300. PubMed PMID: 1406933
- 30 Kiyokawa H, Kineman RD, Manova-Todorova KO, Soares VC, Hoffman ES, Ono M, Khanam D, Hayday AC, Frohman LA, Koff A. Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1). *Cell*. 1996 May 31;85(5):721-32. PubMed PMID: 8646780
- 31 Moreno CS, Evans CO, Zhan X, Okor M, Desiderio DM, Oyesiku NM. Novel molecular signaling and classification of human clinically nonfunctional pituitary adenomas identified by gene expression profiling and proteomic analyses. *Cancer Res*. 2005 Nov 15;65(22):10214-22. PubMed PMID: 16288009
- 32 Simpson DJ, McNicol AM, Murray DC, Bahar A, Turner HE, Wass JA, Esiri MM, Clayton RN, Farrell WE. Molecular pathology shows p16 methylation in nonadenomatous pituitaries from patients with Cushing's disease. *Clin Cancer Res*. 2004 Mar 1;10(5):1780-8. PubMed PMID: 15014032
- 33 Hossain MG, Iwata T, Mizusawa N, Qian ZR, Shima SW, Okutsu T, Yamada S, Sano T, Yoshimoto K. Expression of p18(INK4C) is down-regulated in human pituitary adenomas. *Endocr Pathol*. 2009 Summer;20(2):114-21. doi: 10.1007/s12022-009-9076-0. PubMed PMID: 19401813
- 34 Roussel-Gervais A, Bilodeau S, Vallette S, Berthelet F, Lacroix A, Figarella-Branger D, Brue T, Drouin J. Cooperation between cyclin E and p27(Kip1) in pituitary tumorigenesis. *Mol Endocrinol*. 2010 Sep;24(9):1835-45. doi: 10.1210/me.2010-0091. Epub 2010 Jul 21. PubMed PMID: 20660298
- 35 Sekiya T, Bronstein MD, Benfani K, Longuini VC, Jallad RS, Machado MC, Goncalves TD, Osaki LH, Higashi L, Viana-Jr J, Kater C, Lee M, Molatore S, Francisco G, Chammas R, Naslavsky MS, Schlesinger D, Gama P, Duarte YA, Lebrão ML, Zatz M, Meirelles O, Liberman B, Fragoso MC, Toledo SP, Pellegata NS, Toledo RA. p27 variant and corticotropinoma susceptibility: a genetic and in vitro study. *Endocr Relat Cancer*. 2014 Apr 28;21(3):395-404. doi: 10.1530/ERC-13-0486. Print 2014 Jun. PubMed PMID: 24532476
- 36 Pei L, Melmed S. Isolation and characterization of a pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Mol Endocrinol*. 1997 Apr;11(4):433-41. PubMed PMID: 9092795
- 37 Heaney AP, Melmed S. New pituitary oncogenes. *Endocr Relat Cancer*. 2000 Mar;7(1):3-15. Review. PubMed PMID: 10808192
- 38 Zhang X, Horwitz GA, Heaney AP, Nakashima M, Prezant TR, Bronstein MD, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Feb;84(2):761-7. PubMed PMID: 10022450
- 39 Hunter JA, Skelly RH, Aylwin SJ, Geddes JF, Evanson J, Besser GM, Monson JP, Burrin JM. The relationship between pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression and in vitro hormone and vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from human pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol*. 2003 Feb;148(2):203-11. PubMed PMID: 12590639
- 40 Filippella M, Galland F, Kujas M, Young J, Faggiano A, Lombardi G, Colao A, Meduri G, Chanson P. Pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression correlates with the

- proliferative activity and recurrence status of pituitary adenomas: a clinical and immunohistochemical study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Oct;65(4):536-43. PubMed PMID: 16984249
- 41 Bazina M, Vukojevic K, Roje D, Saraga-Babic M. Influence of growth and transcriptional factors, and signaling molecules on early human pituitary development. *J Mol Histol*. 2009 Aug;40(4):277-86. doi: 10.1007/s10735-009-9239-9. Epub 2009 Nov 17. PubMed PMID: 19921443
 - 42 McAndrew J, Paterson AJ, Asa SL, McCarthy KJ, Kudlow JE. Targeting of transforming growth factor-alpha expression to pituitary lactotrophs in transgenic mice results in selective lactotroph proliferation and adenomas. *Endocrinology*. 1995 Oct;136(10):4479-88. PubMed PMID: 7664668
 - 43 Ezzat S, Zheng L, Zhu XF, Wu GE, Asa SL. Targeted expression of a human pituitary tumor-derived isoform of FGF receptor-4 recapitulates pituitary tumorigenesis. *J Clin Invest*. 2002 Jan;109(1):69-78. Retraction in: Ezzat S, Zheng L, Zhu XF, Wu GE, Asa SL. *J Clin Invest*. 2015 Aug 3;125(8):3303. PubMed PMID: 11781352
 - 44 Pellegrini I, Barlier A, Gunz G, Figarella-Branger D, Enjalbert A, Grisoli F, Jaquet P. Pit-1 gene expression in the human pituitary and pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Jul;79(1):189-96. PubMed PMID: 8027225
 - 45 Fedele M, Visone R, De Martino I, Troncone G, Palmieri D, Battista S, Ciarmiello A, Pallante P, Arra C, Melillo RM, Helin K, Croce CM, Fusco A. HMGA2 induces pituitary tumorigenesis by enhancing E2F1 activity. *Cancer Cell*. 2006 Jun;9(6):459-71. PubMed PMID: 16766265
 - 46 Ahtiainen P, Sharp V, Rulli SB, Rivero-Müller A, Mamaeva V, Røyttä M, Huhtaniemi I. Enhanced LH action in transgenic female mice expressing hCGbeta-subunit induces pituitary prolactinomas; the role of high progesterone levels. *Endocr Relat Cancer*. 2010 Jun 3;17(3):611-21. doi: 10.1677/ERC-10-0016. Print 2010 Sep. PubMed PMID: 20453081
 - 47 Palmieri D, Valentino T, De Martino I, Esposito F, Cappabianca P, Wierinckx A, Vitiello M, Lombardi G, Colao A, Trouillas J, Pierantoni GM, Fusco A, Fedele M. PIT1 upregulation by HMGA proteins has a role in pituitary tumorigenesis. *Endocr Relat Cancer*. 2012 Apr 10;19(2):123-35. doi: 10.1530/ERC-11-0135. Print 2012 Apr. PubMed PMID: 22199144
 - 48 Zhang X, Rice K, Wang Y, Chen W, Zhong Y, Nakayama Y, Zhou Y, Klibanski A. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology*. 2010 Mar;151(3):939-47. doi: 10.1210/en.2009-0657. Epub 2009 Dec 23. PubMed PMID: 20032057
 - 49 Gadelha MR, Trivellin G, Hernández Ramírez LC, Korbonits M. Genetics of pituitary adenomas. *Front Horm Res*. 2013;41:111-40. doi: 10.1159/000345673. Epub 2013 Mar 19. Review. PubMed PMID: 23652674
 - 50 Sivapragasam M, Rotondo F, Lloyd RV, Scheithauer BW, Cusimano M, Syro LV, Kovacs K. MicroRNAs in the human pituitary. *Endocr Pathol*. 2011 Sep;22(3):134-43. doi: 10.1007/s12022-011-9167-6. Review. PubMed PMID: 21647843

- 51 Zatelli MC, degli Uberti EC. MicroRNAs and possible role in pituitary adenoma. *Semin Reprod Med.* 2008 Nov;26(6):453-60. doi: 10.1055/s-0028-1096125. Epub 2008 Oct 24. Review. PubMed PMID: 18951327
- 52 Leontiou CA, Gueorguiev M, van der Spuy J, Quinton R, Lolli F, Hassan S, Chahal HS, Igreja SC, Jordan S, Rowe J, Stolbrink M, Christian HC, Wray J, Bishop-Bailey D, Berney DM, Wass JA, Popovic V, Ribeiro-Oliveira A Jr, Gadelha MR, Monson JP, Akker SA, Davis JR, Clayton RN, Yoshimoto K, Iwata T, Matsuno A, Eguchi K, Musat M, Flanagan D, Peters G, Bolger GB, Chapple JP, Frohman LA, Grossman AB, Korbonits M. The role of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in familial and sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jun;93(6):2390-401. doi: 10.1210/jc.2007-2611. Epub 2008 Apr 1. PubMed PMID: 18381572
- 53 Beckers A, Daly AF. The clinical, pathological, and genetic features of familial isolated pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):371-82. Review. PubMed PMID: 17893250
- 54 Elston MS, McDonald KL, Clifton-Bligh RJ, Robinson BG. Familial pituitary tumor syndromes. *Nat Rev Endocrinol.* 2009 Aug;5(8):453-61. doi: 10.1038/nrendo.2009.126. Epub 2009 Jun 30. Review. PubMed PMID: 19564887
- 55 Agarwal SK, Lee Burns A, Sukhodolets KE, Kennedy PA, Obungu VH, Hickman AB, Mullendore ME, Whitten I, Skarulis MC, Simonds WF, Mateo C, Crabtree JS, Scacheri PC, Ji Y, Novotny EA, Garrett-Beal L, Ward JM, Libutti SK, Richard Alexander H, Cerrato A, Parisi MJ, Santa Anna-A S, Oliver B, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ. Molecular pathology of the MEN1 gene. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Apr;1014:189-98. Review. PubMed PMID: 15153434
- 56 Wautot V, Vercherat C, Lespinasse J, Chambe B, Lenoir GM, Zhang CX, Porchet N, Cordier M, Bérout C, Calender A. Germline mutation profile of MEN1 in multiple endocrine neoplasia type 1: search for correlation between phenotype and the functional domains of the MEN1 protein. *Hum Mutat.* 2002 Jul;20(1):35-47. PubMed PMID: 12112656
- 57 Pellegata NS, Quintanilla-Martinez L, Siggelkow H, Samson E, Bink K, Höfler H, Fend F, Graw J, Atkinson MJ. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Oct 17;103(42):15558-63. Epub 2006 Oct 9. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Dec 12;103(50):19213. PubMed PMID: 17030811
- 58 Ozawa A, Agarwal SK, Mateo CM, Burns AL, Rice TS, Kennedy PA, Quigley CM, Simonds WF, Weinstein LS, Chandrasekharappa SC, Collins FS, Spiegel AM, Marx SJ. The parathyroid/pituitary variant of multiple endocrine neoplasia type 1 usually has causes other than p27Kip1 mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 May;92(5):1948-51. Epub 2007 Feb 13. PubMed PMID: 17299066
- 59 Agarwal SK, Mateo CM, Marx SJ. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 May;94(5):1826-34. doi: 10.1210/jc.2008-2083. Epub 2009 Jan 13. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jul;94(7):2674. PubMed PMID: 19141585
- 60 Longuini VC, Lourenço DM Jr, Sekiya T, Meirelles O, Goncalves TD, Coutinho FL, Francisco G, Osaki LH, Chammas R, Alves VA, Siqueira SA, Schlesinger D, Naslavsky MS, Zatz M, Duarte YA, Lebrão ML, Gama P, Lee M, Molatore S, Pereira MA, Jallad RS, Bronstein MD, Cunha-Neto MB, Liberman B, Fragoso MC, Toledo SP, Pellegata NS,

- Toledo RA. Association between the p27 rs2066827 variant and tumor multiplicity in patients harboring MEN1 germline mutations. *Eur J Endocrinol.* 2014 Sep;171(3):335-42. doi: 10.1530/EJE-14-0130. Epub 2014 Jun 11. PubMed PMID: 24920291
- 61 Georgitsi M, Raitila A, Karhu A, van der Luitj RB, Aalfs CM, Sane T, Vierimaa O, Mäkinen MJ, Tuppurainen K, Paschke R, Gimm O, Koch CA, Gündogdu S, Lucassen A, Tischkowitz M, Izatt L, Aylwin S, Bano G, Hodgson S, De Menis E, Launonen V, Vahteristo P, Aaltonen LA. Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):3321-5. Epub 2007 May 22. PubMed PMID: 17519308
- 62 Carney JA, Hruska LS, Beauchamp GD, Gordon H. Dominant inheritance of the complex of myxomas, spotty pigmentation, and endocrine overactivity. *Mayo Clin Proc.* 1986 Mar;61(3):165-72. PubMed PMID: 3945116
- 63 Stergiopoulos SG, Stratakis CA. Human tumors associated with Carney complex and germline PRKAR1A mutations: a protein kinase A disease! *FEBS Lett.* 2003 Jul 3;546(1):59-64. Review. PubMed PMID: 12829237
- 64 Dworakowska D, Korbonits M, Aylwin S, McGregor A, Grossman AB. The pathology of pituitary adenomas from a clinical perspective. *Front Biosci (Schol Ed).* 2011 Jan 1;3:105-16. Review. PubMed PMID: 21196361
- 65 Vierimaa O, Georgitsi M, Lehtonen R, Vahteristo P, Kokko A, Raitila A, Tuppurainen K, Ebeling TM, Salmela PI, Paschke R, Gündogdu S, De Menis E, Mäkinen MJ, Launonen V, Karhu A, Aaltonen LA. Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science.* 2006 May 26;312(5777):1228-30. PubMed PMID: 16728643
- 66 Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, Valdes-Socin H, Rohmer V, Tamburrano G, Borson-Chazot C, Estour B, Ciccarelli E, Brue T, Ferolla P, Emy P, Colao A, De Menis E, Lecomte P, Penfornis F, Delemer B, Bertherat J, Wémeau JL, De Herder W, Archaubeaud F, Stevenaert A, Calender A, Murat A, Cavagnini F, Beckers A. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Sep;91(9):3316-23. Epub 2006 Jun 20. PubMed PMID: 16787992
- 67 Daly AF, Tichomirowa MA, Petrossians P, Heliövaara E, Jaffrain-Rea ML, Barlier A, Naves LA, Ebeling T, Karhu A, Raappana A, Cazabat L, De Menis E, Montañana CF, Raverot G, Weil RJ, Sane T, Maiter D, Neggess S, Yaneva M, Tabarin A, Verrua E, Eloranta E, Murat A, Vierimaa O, Salmela PI, Emy P, Toledo RA, Sabaté MI, Villa C, Popelier M, Salvatori R, Jennings J, Longás AF, Labarta Aizpún JI, Georgitsi M, Paschke R, Ronchi C, Valimaki M, Saloranta C, De Herder W, Cozzi R, Guitelman M, Magri F, Lagonigro MS, Halaby G, Corman V, Hagelstein MT, Vanbellinghen JF, Barra GB, Gimenez-Roqueplo AP, Cameron FJ, Borson-Chazot F, Holdaway I, Toledo SP, Stalla GK, Spada A, Zacharieva S, Bertherat J, Brue T, Bours V, Chanson P, Aaltonen LA, Beckers A. Clinical characteristics and therapeutic responses in patients with germ-line AIP mutations and pituitary adenomas: an international collaborative study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Nov;95(11):E373-83. doi: 10.1210/jc.2009-2556. Epub 2010 Aug 4. PubMed PMID: 20685857
- 68 Georgitsi M, Heliövaara E, Paschke R, Kumar AV, Tischkowitz M, Vierimaa O, Salmela P, Sane T, De Menis E, Cannavò S, Gündogdu S, Lucassen A, Izatt L, Aylwin S, Bano G, Hodgson S, Koch CA, Karhu A, Aaltonen LA. Large genomic deletions in AIP in

- pituitary adenoma predisposition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct;93(10):4146-51. doi: 10.1210/jc.2008-1003. Epub 2008 Jul 15. PubMed PMID: 18628514
- 69 Daly AF, Vanbellinthen JF, Khoo SK, Jaffrain-Rea ML, Naves LA, Guitelman MA, Murat A, Emy P, Gimenez-Roqueplo AP, Tamburrano G, Raverot G, Barlier A, De Herder W, Penfornis A, Ciccarelli E, Estour B, Lecomte P, Gatta B, Chabre O, Sabaté MI, Bertagna X, Garcia Basavilbaso N, Stalldecker G, Colao A, Ferolla P, Wémeau JL, Caron P, Sadoul JL, Oneto A, Archambeaud F, Calender A, Sinilnikova O, Montañana CF, Cavagnini F, Hana V, Solano A, Delettieres D, Luccio-Camelo DC, Basso A, Rohmer V, Brue T, Bours V, Teh BT, Beckers A. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 May;92(5):1891-6. Epub 2007 Jan 23. PubMed PMID: 17244780
- 70 Georgitsi M, Heliövaara E, Paschke R, Kumar AV, Tischkowitz M, Vierimaa O, Salmela P, Sane T, De Menis E, Cannavò S, Gündogdu S, Lucassen A, Izatt L, Aylwin S, Bano G, Hodgson S, Koch CA, Karhu A, Aaltonen LA. Large genomic deletions in AIP in pituitary adenoma predisposition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct;93(10):4146-51. doi: 10.1210/jc.2008-1003. Epub 2008 Jul 15. PubMed PMID: 18628514.
- 71 Chahal HS, Chapple JP, Frohman LA, Grossman AB, Korbonits M. Clinical, genetic and molecular characterization of patients with familial isolated pituitary adenomas (FIPA). *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Jul;21(7):419-27. doi: 10.1016/j.tem.2010.02.007. Epub 2010 Jun 1. Review. PubMed PMID: 20570174
- 72 Naves LA, Daly AF, Vanbellinthen JF, Casulari LA, Spilioti C, Magalhães AV, Azevedo MF, Giacomini LA, Nascimento PP, Nunes RO, Rosa JW, Jaffrain-Rea ML, Bours V, Beckers A. Variable pathological and clinical features of a large Brazilian family harboring a mutation in the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene. *Eur J Endocrinol.* 2007 Oct;157(4):383-91. PubMed PMID: 17893251.
- 73 Tichomirowa MA, Lee M, Barlier A, Daly AF, Marinoni I, Jaffrain-Rea ML, Naves LA, Rodien P, Rohmer V, Faucz FR, Caron P, Estour B, Lecomte P, Borson-Chazot F, Penfornis A, Yaneva M, Guitelman M, Castermans E, Verhaege C, Wémeau JL, Tabarin A, Fajardo Montañana C, Delemer B, Kerlan V, Sadoul JL, Cortet Rudelli C, Archambeaud F, Zacharieva S, Theodoropoulou M, Brue T, Enjalbert A, Bours V, Pellegata NS, Beckers A. Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (CDKN1B) gene variants in AIP mutation-negative familial isolated pituitary adenoma kindreds. *Endocr Relat Cancer.* 2012 May 3;19(3):233-41. doi: 10.1530/ERC-11-0362. Print 2012 Jun. PubMed PMID: 22291433
- 74 Naves LA, Jaffrain-Rea ML, Vêncio SA, Jacomini CZ, Casulari LA, Daly AF, Beckers A. Aggressive prolactinoma in a child related to germline mutation in the ARYL hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010 Nov;54(8):761-7. PubMed PMID: 21340166
- 75 Naves LA, Zakir JCO, Vilar L. Adenomas hipofisários familiares: investigação clínica e laboratorial. In: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia; Czepielewski MA, Meirelles R, Carvalho GA, organizadores. PROENDÓCRINO Programa de Atualização em

Endocrinologia e Metabologia: Ciclo 7. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2016. p. 9-30. (Sistema de Educação Continuada a Distância, v. 3).

- 76 Trivellin G, Daly AF, Faucz FR, Yuan B, Rostomyan L, Larco DO, Scherthaner-Reiter MH, Szarek E, Leal LF, Caberg JH, Castermans E, Villa C, Dimopoulos A, Chittiboina P, Xekouki P, Shah N, Metzger D, Lysy PA, Ferrante E, Strebkova N, Mazerkina N, Zatelli MC, Lodish M, Horvath A, de Alexandre RB, Manning AD, Levy I, Keil MF, Sierra Mde L, Palmeira L, Coppieters W, Georges M, Naves LA, Jamar M, Bours V, Wu TJ, Choong CS, Bertherat J, Chanson P, Kamenický P, Farrell WE, Barlier A, Quezado M, Bjelobaba I, Stojilkovic SS, Wess J, Costanzi S, Liu P, Lupski JR, Beckers A, Stratakis CA. Gigantism and acromegaly due to Xq26 microduplications and GPR101 mutation. *N Engl J Med*. 2014 Dec 18;371(25):2363-74. doi: 10.1056/NEJMoa1408028. Epub 2014 Dec 3. PubMed PMID: 25470569
- 77 Beckers A, Lodish MB, Trivellin G, Rostomyan L, Lee M, Faucz FR, Yuan B, Choong CS, Caberg JH, Verrua E, Naves LA, Cheetham TD, Young J, Lysy PA, Petrossians P, Cotterill A, Shah NS, Metzger D, Castermans E, Ambrosio MR, Villa C, Strebkova N, Mazerkina N, Gaillard S, Barra GB, Casulari LA, Neggers SJ, Salvatori R, Jaffrain-Rea ML, Zacharin M, Santamaria BL, Zacharieva S, Lim EM, Mantovani G, Zatelli MC, Collins MT, Bonneville JF, Quezado M, Chittiboina P, Oldfield EH, Bours V, Liu P, W de Herder W, Pellegata N, Lupski JR, Daly AF, Stratakis CA. X-linked acrogigantism syndrome: clinical profile and therapeutic responses. *Endocr Relat Cancer*. 2015 Jun;22(3):353-67. doi: 10.1530/ERC-15-0038. Epub 2015 Feb 24. PubMed PMID: 25712922
- 78 Naves LA, Daly AF, Dias LA, Yuan B, Zakir JC, Barra GB, Palmeira L, Villa C, Trivellin G, Júnior AJ, Neto FF, Liu P, Pellegata NS, Stratakis CA, Lupski JR, Beckers A. Aggressive tumor growth and clinical evolution in a patient with X-linked acro-gigantism syndrome. *Endocrine*. 2016 Feb;51(2):236-44. doi: 10.1007/s12020-015-0804-6. Epub 2015 Nov 25. PubMed PMID: 26607152
- 79 Trouillas J, Roy P, Sturm N, Dantony E, Cortet-Rudelli C, Viennet G, Bonneville JF, Assaker R, Auger C, Brue T, Cornelius A, Dufour H, Jouanneau E, François P, Galland F, Mougél F, Chapuis F, Villeneuve L, Maurage CA, Figarella-Branger D, Raverot G; members of HYPOPRONOS, Barlier A, Bernier M, Bonnet F, Borson-Chazot F, Brassier G, Caulet-Maugendre S, Chabre O, Chanson P, Cottier JF, Delemer B, Delgrange E, Di Tommaso L, Eimer S, Gaillard S, Jan M, Girard JJ, Lapras V, Loiseau H, Passagia JG, Patey M, Penfornis A, Poirier JY, Perrin G, Tabarin A. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case-control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathol*. 2013 Jul;126(1):123-35. doi: 10.1007/s00401-013-1084-y. Epub 2013 Feb 12. PubMed PMID: 23400299
- 80 Cusimano MD, Kan P, Nassiri F, Anderson J, Goguen J, Vanek I, Smyth HS, Fenton R, Muller PJ, Kovacs K. Outcomes of surgically treated giant pituitary tumours. *Can J Neurol Sci*. 2012 Jul;39(4):446-57. PubMed PMID: 22728851
- 81 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 Jan;38(1):99-106; discussion 106-7. PubMed PMID: 8747957
- 82 Hardy J. Transphenoidal microsurgery of the normal and pathological pituitary. *Clin Neurosurg*. 1969;16:185-217. PubMed PMID: 5811707

- 83 Wilson CB: Neurosurgical management of large and invasive pituitary tumors, in Tindall GT, Collins WF (eds): *Clinical Management of Pituitary Disorders*. New York: Raven Press, 1979, pp 335-342
- 84 Knosp E, Steiner E, Kitz K, Matula C. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery*. 1993 Oct;33(4):610-7; discussion 617-8. PubMed PMID: 8232800
- 85 Edal AL, Skjöldt K, Nepper-Rasmussen HJ. SIPAP--a new MR classification for pituitary adenomas. Suprasellar, infrasellar, parasellar, anterior and posterior. *Acta Radiol*. 1997 Jan;38(1):30-6. PubMed PMID: 9059398
- 86 Cottier JP, Destrieux C, Brunereau L, Bertrand P, Moreau L, Jan M, Herbreteau D. Cavernous sinus invasion by pituitary adenoma: MR imaging. *Radiology*. 2000 May;215(2):463-9. PubMed PMID: 10796926
- 87 Vieira JO Jr, Cukiert A, Liberman B. Evaluation of magnetic resonance imaging criteria for cavernous sinus invasion in patients with pituitary adenomas: logistic regression analysis and correlation with surgical findings. *Surg Neurol*. 2006 Feb;65(2):130-5; discussion 135. PubMed PMID: 16427401
- 88 Kovacs K, Horvath E, Vidal S. Classification of pituitary adenomas. *J Neurooncol*. 2001 Sep;54(2):121-7. Review. PubMed PMID: 11761429
- 89 Al-Brahim NY, Asa SL. My approach to pathology of the pituitary gland. *J Clin Pathol*. 2006 Dec;59(12):1245-53. Review. PubMed PMID: 17142570
- 90 Di Ieva A, Rotondo F, Syro LV, Cusimano MD, Kovacs K. Aggressive pituitary adenomas--diagnosis and emerging treatments. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Jul;10(7):423-35. doi: 10.1038/nrendo.2014.64. Epub 2014 May 13. Review. PubMed PMID: 24821329
- 91 Saeger W, Honegger J, Theodoropoulou M, Knappe UJ, Schöfl C, Petersenn S, Buslei R. Clinical Impact of the Current WHO Classification of Pituitary Adenomas. *Endocr Pathol*. 2016 Jun;27(2):104-14. doi: 10.1007/s12022-016-9418-7. Review. PubMed PMID: 26860936
- 92 George DH, Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Young WF Jr, Lloyd RV, Meyer FB. Croke's cell adenoma of the pituitary: an aggressive variant of corticotroph adenoma. *Am J Surg Pathol*. 2003 Oct;27(10):1330-6. PubMed PMID: 14508394
- 93 Kovacs K, Diep CC, Horvath E, Cusimano M, Smyth H, Lombardero CC, Scheithauer BW, Lloyd RV. Prognostic indicators in an aggressive pituitary Croke's cell adenoma. *Can J Neurol Sci*. 2005 Nov;32(4):540-5. PubMed PMID: 16408589
- 94 Croke, A. A change in the basophil cells of the pituitary gland common to conditions which exhibit the syndrome attributed to basophil adenoma. *J. Pathol. Bacteriol*. 1935; 41: 339–349
- 95 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 Apr;1(2):80-92. doi: 10.1007/s12672-010-0014-x. PubMed PMID: 20717480

- 96 Scheithauer BW, Jaap AJ, Horvath E, Kovacs K, Lloyd RV, Meyer FB, Laws ER Jr, Young WF Jr. Clinically silent corticotroph tumors of the pituitary gland. *Neurosurgery*. 2000 Sep;47(3):723-9; discussion 729-30. PubMed PMID: 10981760
- 97 Jahangiri A, Wagner JR, Pekmezci M, Hiniker A, Chang EF, Kunwar S, Blevins L, Aghi MK. A Comprehensive Long-Term Retrospective Analysis of Silent Corticotrophic Adenomas versus Hormone-Negative Adenomas. *Neurosurgery*. 2013 Mar 5. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23467251
- 98 Asa, S. L., Ezzat, S., Watson, R. E., Lindell, E. P. & Horvath, E. in *Tumors of Endocrine Organs* (eds DeLellis, R. et al.) 30–32 (IARC Press, 2004).
- 99 Mete O, Ezzat S, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. *J Mol Endocrinol*. 2012 Aug 30;49(2):R69-78. doi: 10.1530/JME-12-0113. Print 2012 Oct. Review. PubMed PMID: 22822048
- 100 Mete O, Asa SL. Clinicopathological correlations in pituitary adenomas. *Brain Pathol*. 2012 Jul;22(4):443-53. doi: 10.1111/j.1750-3639.2012.00599.x. Review. PubMed PMID: 22697380
- 101 Mete O, Asa SL. Therapeutic implications of accurate classification of pituitary adenomas. *Semin Diagn Pathol*. 2013 Aug;30(3):158-64. doi: 10.1053/j.semmp.2013.06.002. PubMed PMID: 24144285
- 102 Batisse M, Raverot G, Maqdasy S, Durando X, Sturm N, Montoriol PF, Kemeny JL, Chazal J, Trouillas J, Tauveron I. Aggressive silent GH pituitary tumor resistant to multiple treatments, including temozolomide. *Cancer Invest*. 2013 Mar;31(3):190-6. doi: 10.3109/07357907.2013.775293. PubMed PMID: 23477586
- 103 Vieira Neto L, Chimelli L, Pereira PJ, Gasparetto EL, Bines J, Wildemberg LE, Gadelha MR. The role of temozolomide in the treatment of a patient with a pure silent pituitary somatotroph carcinoma. *Endocr Pract*. 2013 Nov-Dec;19(6):e145-9. doi: 10.4158/EP12400.CR. PubMed PMID: 23807517
- 104 Salehi F, Agur A, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV, Cusimano M. Ki-67 in pituitary neoplasms: a review--part I. *Neurosurgery*. 2009 Sep;65(3):429-37; discussion 437. doi: 10.1227/01.NEU.0000349930.66434.82. Review. PubMed PMID: 19687686
- 105 de Aguiar PH, Aires R, Laws ER, Isolan GR, Logullo A, Patil C, Katznelson L. Labeling index in pituitary adenomas evaluated by means of MIB-1: is there a prognostic role? A critical review. *Neurol Res*. 2010 Dec;32(10):1060-71. doi: 10.1179/016164110X12670144737855. Epub 2010 May 18. Review. PubMed PMID: 20483025.
- 106 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 Apr;38(4):765-70; discussion 770-1. PubMed PMID: 8692397
- 107 Wierinckx A, Auger C, Devauchelle P, Reynaud A, Chevallier P, Jan M, Perrin G, Fèvre-Montange M, Rey C, Figarella-Branger D, Raverot G, Belin MF, Lachuer J, Trouillas J. A diagnostic marker set for invasion, proliferation, and aggressiveness of prolactin pituitary tumors. *Endocr Relat Cancer*. 2007 Sep;14(3):887-900. PubMed PMID: 17914117

- 108 Kontogeorgos G. Predictive markers of pituitary adenoma behavior. *Neuroendocrinology*. 2006;83(3-4):179-88. Epub 2006 Oct 13. Review. PubMed PMID: 17047381
- 109 Hentschel SJ, McCutcheon IE, Moore W, Durity FA. P53 and MIB-1 immunohistochemistry as predictors of the clinical behavior of nonfunctioning pituitary adenomas. *Can J Neurol Sci*. 2003 Aug;30(3):215-9. PubMed PMID: 12945944
- 110 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 Aug;59(2):341-53; discussion 341-53. PubMed PMID: 16883174
- 111 Suliman M, Royds J, Cullen D, Timperley W, Powell T, Battersby R, Jones TH. Mdm2 and the p53 pathway in human pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001 Mar;54(3):317-25. PubMed PMID: 11298083
- 112 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 May;39(5):758-66. doi: 10.1016/j.humpath.2007.10.004. PubMed PMID: 18439942
- 113 Sekiya T, Bronstein MD, Benfini K, Longuini VC, Jallad RS, Machado MC, Goncalves TD, Osaki LH, Higashi L, Viana-Jr J, Kater C, Lee M, Molatore S, Francisco G, Chammas R, Naslavsky MS, Schlesinger D, Gama P, Duarte YA, Lebrão ML, Zatz M, Meirelles O, Liberman B, Fragoso MC, Toledo SP, Pellegata NS, Toledo RA. p27 variant and corticotropinoma susceptibility: a genetic and in vitro study. *Endocr Relat Cancer*. 2014 Apr 28;21(3):395-404. doi: 10.1530/ERC-13-0486. Print 2014 Jun. PubMed PMID: 24532476
- 114 Lloyd RV, Jin L, Qian X, Kulig E. Aberrant p27kip1 expression in endocrine and other tumors. *Am J Pathol*. 1997 Feb;150(2):401-7. PubMed PMID: 9033255
- 115 Lloyd RV, Erickson LA, Jin L, Kulig E, Qian X, Cheville JC, Scheithauer BW. p27kip1: a multifunctional cyclin-dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancers. *Am J Pathol*. 1999 Feb;154(2):313-23. Review. PubMed PMID: 10027389
- 116 Chesnokova V, Zonis S, Kovacs K, Ben-Shlomo A, Wawrowsky K, Bannykh S, Melmed S. p21(Cip1) restrains pituitary tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Nov 11;105(45):17498-503. doi: 10.1073/pnas.0804810105. Epub 2008 Nov 3. PubMed PMID: 18981426
- 117 Melmed S. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest*. 2009 Nov;119(11):3189-202. doi: 10.1172/JCI39375. Epub 2009 Nov 2. Review. PubMed PMID: 19884662
- 118 Yamada S, Takada K. Angiogenesis in pituitary adenomas. *Microsc Res Tech*. 2003 Feb 1;60(2):236-43. Review. PubMed PMID: 12539178
- 119 Fukui S, Nawashiro H, Otani N, Ooigawa H, Yano A, Nomura N, Tokumaru AM, Miyazawa T, Ohnuki A, Tsuzuki N, Katoh H, Ishihara S, Shima K. Vascular endothelial growth factor expression in pituitary adenomas. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;86:519-21. PubMed PMID: 14753498
- 120 McCabe CJ, Boelaert K, Tannahill LA, Heaney AP, Stratford AL, Khaira JS, Hussain S, Sheppard MC, Franklyn JA, Gittoes NJ. Vascular endothelial growth factor, its receptor

- KDR/Flk-1, and pituitary tumor transforming gene in pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Sep;87(9):4238-44. PubMed PMID: 12213878
- 121 Iuchi T, Saeki N, Osato K, Yamaura A. Proliferation, vascular endothelial growth factor expression and cavernous sinus invasion in growth hormone secreting pituitary adenomas. *Acta Neurochir (Wien).* 2000;142(12):1345-51. PubMed PMID: 11214627
- 122 Lloyd RV, Scheithauer BW, Kuroki T, Vidal S, Kovacs K, Stefaneanu L. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in Human Pituitary Adenomas and Carcinomas. *Endocr Pathol.* 1999 Autumn;10(3):229-235. PubMed PMID: 12114703
- 123 Korsisaari N, Ross J, Wu X, Kowanetz M, Pal N, Hall L, Eastham-Anderson J, Forrest WF, Van Bruggen N, Peale FV, Ferrara N. Blocking vascular endothelial growth factor-A inhibits the growth of pituitary adenomas and lowers serum prolactin level in a mouse model of multiple endocrine neoplasia type 1. *Clin Cancer Res.* 2008 Jan 1;14(1):249-58. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1552. PubMed PMID: 18172277
- 124 Cooper O, Vlotides G, Fukuoka H, Greene MI, Melmed S. Expression and function of ErbB receptors and ligands in the pituitary. *Endocr Relat Cancer.* 2011 Oct 27;18(6):R197-211. doi: 10.1530/ERC-11-0066. Print 2011 Oct. Review. PubMed PMID: 21917845
- 125 Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 2007 Oct 4;26(45):6469-87. Epub 2007 Apr 30. Review. PubMed PMID: 17471238
- 126 Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 1:S3-8. Review. PubMed PMID: 11521719
- 127 Waage IS, Vreim I, Torp SH. C-erbB2/HER2 in human gliomas, medulloblastomas, and meningiomas: a minireview. *Int J Surg Pathol.* 2013 Dec;21(6):573-82. doi: 10.1177/1066896913492196. Epub 2013 Jul 9. Review. PubMed PMID: 23842006
- 128 Birman P, Michard M, Li JY, Peillon F, Bression D. Epidermal growth factor-binding sites, present in normal human and rat pituitaries, are absent in human pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987 Aug;65(2):275-81. PubMed PMID: 3597708
- 129 Kontogeorgos G, Stefaneanu L, Kovacs K, Cheng Z. Localization of Epidermal Growth Factor (EGF) and Epidermal Growth Factor Receptor (EGFr) in Human Pituitary Adenomas and Nontumorous Pituitaries: An Immunocytochemical Study. *Endocr Pathol.* 1996 Spring;7(1):63-70. PubMed PMID: 12114681
- 130 Onguru O, Scheithauer BW, Kovacs K, Vidal S, Jin L, Zhang S, Ruebel KH, Lloyd RV. Analysis of epidermal growth factor receptor and activated epidermal growth factor receptor expression in pituitary adenomas and carcinomas. *Mod Pathol.* 2004 Jul;17(7):772-80. PubMed PMID: 15098012
- 131 Ezzat S, Zheng L, Smyth HS, Asa SL. The c-erbB-2/neu proto-oncogene in human pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997 May;46(5):599-606. PubMed PMID: 9231056
- 132 Nose-Alberti V, Mesquita MI, Martin LC, Kayath MJ. Adrenocorticotropin-Producing Pituitary Carcinoma with Expression of c-erbB-2 and High PCNA Index: A Comparative Study with Pituitary Adenomas and Normal Pituitary Tissues. *Endocr Pathol.* 1998 Spring;9(1):53-62. PubMed PMID: 12114662

- 133 Vlotides G, Cooper O, Chen YH, Ren SG, Greenman Y, Melmed S. Heregulin regulates prolactinoma gene expression. *Cancer Res.* 2009 May 15;69(10):4209-16. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4934. Epub 2009 Apr 28. PubMed PMID: 19401448
- 134 Ferreira JEA, Mello PA, Magalhaes AV, Botelho CH, Naves LA, Nose V & Schmitt F. Caracterização clínica e imunoistoquímica dos adenomas clinicamente nao-funcionantes de hipófise. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria.* 2005; 63(4): 1070-78
- 135 Botelho CH, Magalhães AV, Mello PA, Schmitt FC, Casulari LA. Expression of p53, Ki-67 and c-erb B2 in growth hormone-and/or prolactin-secreting pituitary adenomas. *Arq Neuropsiquiatr.* 2006 Mar;64(1):60-6. Epub 2006 Apr 5. PubMed PMID: 16622555
- 136 Zada G, Woodmansee WW, Ramkissoon S, Amadio J, Nose V, Laws ER Jr. Atypical pituitary adenomas: incidence, clinical characteristics, and implications. *J Neurosurg.* 2011 Feb;114(2):336-44. doi: 10.3171/2010.8.JNS10290. Epub 2010 Sep 24. PubMed PMID: 20868211
- 137 Zemmoura I, Wierinckx A, Vasiljevic A, Jan M, Trouillas J, François P. Aggressive and malignant prolactin pituitary tumors: pathological diagnosis and patient management. *Pituitary.* 2013 Dec;16(4):515-22. doi: 10.1007/s11102-012-0448-y. PubMed PMID: 23184261
- 138 Molitch ME. Management of medically refractory prolactinoma. *J Neurooncol.* 2014 May;117(3):421-8. doi: 10.1007/s11060-013-1270-8. Epub 2013 Oct 22. Review. PubMed PMID: 24146188
- 139 Gillam MP, Molitch ME, Lombardi G, Colao A. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr Rev.* 2006 Aug;27(5):485-534. Epub 2006 May 26. Review. PubMed PMID: 16705142
- 140 Oh MC, Aghi MK. Dopamine agonist-resistant prolactinomas. *J Neurosurg.* 2011 May;114(5):1369-79. doi: 10.3171/2010.11.JNS101369. Epub 2011 Jan 7. Review. PubMed PMID: 21214334
- 141 Abreu A, Tovar AP, Castellanos R, Valenzuela A, Giraldo CM, Pinedo AC, Guerrero DP, Barrera CA, Franco HI, Ribeiro-Oliveira A Jr, Vilar L, Jallad RS, Duarte FG, Gadelha M, Boguszewski CL, Abucham J, Naves LA, Musolino NR, de Faria ME, Rossato C, Bronstein MD. Challenges in the diagnosis and management of acromegaly: a focus on comorbidities. *Pituitary.* 2016 Aug;19(4):448-57. doi: 10.1007/s11102-016-0725-2. PubMed PMID: 27279011
- 142 Machado MC, Fragoso MC, Moreira AC, Boguszewski CL, Vieira L Neto, Naves LA, Vilar L, Araújo LA, Czepielewski MA, Gadelha MR, Musolino NR, Miranda PA, Bronstein MD, Ribeiro-Oliveira A Jr. Recommendations of the Neuroendocrinology Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism for the diagnosis of Cushing's disease in Brazil. *Arch Endocrinol Metab.* 2016 Jun;60(3):267-86. doi: 10.1590/2359-3997000000174. PubMed PMID: 27355856
- 143 Vieira L Neto, Boguszewski CL, Araújo LA, Bronstein MD, Miranda PA, Musolino NR, Naves LA, Vilar L, Ribeiro-Oliveira A Júnior, Gadelha MR. A review on the diagnosis and treatment of patients with clinically nonfunctioning pituitary adenoma by the Neuroendocrinology Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arch Endocrinol Metab.* 2016 Aug;60(4):374-90. doi: 10.1590/2359-3997000000179. PubMed PMID: 27533614

- 144 Kreutzer J, Vance ML, Lopes MB, Laws ER Jr. Surgical management of GH-secreting pituitary adenomas: an outcome study using modern remission criteria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4072-7. PubMed PMID: 11549628
- 145 Colao A, Grasso LF, Pivonello R, Lombardi G. Therapy of aggressive pituitary tumors. *Expert Opin Pharmacother.* 2011 Jul;12(10):1561-70. doi: 10.1517/14656566.2011.568478. Epub 2011 Mar 24. Review. PubMed PMID: 21434849
- 146 Wilson TJ, McKean EL, Barkan AL, Chandler WF, Sullivan SE. Repeat endoscopic transsphenoidal surgery for acromegaly: remission and complications. *Pituitary.* 2013 Dec;16(4):459-64. doi: 10.1007/s11102-012-0457-x. PubMed PMID: 23307479
- 147 Melmed S, Colao A, Barkan A, Molitch M, Grossman AB, Kleinberg D, Clemmons D, Chanson P, Laws E, Schlechte J, Vance ML, Ho K, Giustina A; Acromegaly Consensus Group. Guidelines for acromegaly management: an update. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 May;94(5):1509-17. doi: 10.1210/jc.2008-2421. Epub 2009 Feb 10. Review. PubMed PMID: 19208732
- 148 Fougner SL, Casar-Borota O, Heck A, Berg JP, Bollerslev J. Adenoma granulation pattern correlates with clinical variables and effect of somatostatin analogue treatment in a large series of patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012 Jan;76(1):96-102. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04163.x. PubMed PMID: 21722151
- 149 Kato M, Inoshita N, Sugiyama T, Tani Y, Shichiri M, Sano T, Yamada S, Hirata Y. Differential expression of genes related to drug responsiveness between sparsely and densely granulated somatotroph adenomas. *Endocr J.* 2012;59(3):221-8. Epub 2011 Dec 27. PubMed PMID: 22200580
- 150 Vasiljevic A, Jouanneau E, Trouillas J, Raverot G. Clinicopathological prognostic and therapeutic markers in pituitary tumors. *Minerva Endocrinol.* 2016 Sep;41(3):377-89. Epub 2016 Mar 4. PubMed PMID: 26940458
- 151 Kopchick JJ, Parkinson C, Stevens EC, Trainer PJ. Growth hormone receptor antagonists: discovery, development, and use in patients with acromegaly. *Endocr Rev.* 2002 Oct;23(5):623-46. Review. PubMed PMID: 12372843
- 152 Parkinson C, Trainer PJ. The place of pegvisomant in the management of acromegaly. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001 Sep;10(9):1725-35. Review. PubMed PMID: 11772281
- 153 van der Lely AJ, Biller BM, Brue T, Buchfelder M, Ghigo E, Gomez R, Hey-Hadavi J, Lundgren F, Rajcic N, Strasburger CJ, Webb SM, Koltowska-Häggström M. Long-term safety of pegvisomant in patients with acromegaly: comprehensive review of 1288 subjects in ACROSTUDY. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 May;97(5):1589-97. doi: 10.1210/jc.2011-2508. Epub 2012 Feb 22. PubMed PMID: 22362824
- 154 Fleseriu M, Petersenn S. Medical management of Cushing's disease: what is the future? *Pituitary.* 2012 Sep;15(3):330-41. doi: 10.1007/s11102-012-0397-5. Review. PubMed PMID: 22674211
- 155 Colao A, Boscaro M, Ferone D, Casanueva FF. Managing Cushing's disease: the state of the art. *Endocrine.* 2014 Sep;47(1):9-20. doi: 10.1007/s12020-013-0129-2. Epub 2014 Jan 11. Review. PubMed PMID: 24415169

- 156 Pollock BE, Young WF Jr. Stereotactic radiosurgery for patients with ACTH-producing pituitary adenomas after prior adrenalectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002 Nov 1;54(3):839-41. PubMed PMID: 12377337
- 157 Vik-Mo EO, Øksnes M, Pedersen PH, Wentzel-Larsen T, Rødahl E, Thorsen F, Schreiner T, Aanderud S, Lund-Johansen M. Gamma knife stereotactic radiosurgery of Nelson syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2009 Feb;160(2):143-8. doi: 10.1530/EJE-08-0687. Epub 2008 Nov 7. PubMed PMID: 18996962
- 158 Petit JH, Biller BM, Yock TI, Swearingen B, Coen JJ, Chapman P, Ancukiewicz M, Bussiere M, Klibanski A, Loeffler JS. Proton stereotactic radiotherapy for persistent adrenocorticotropin-producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Feb;93(2):393-9. Epub 2007 Nov 20. PubMed PMID: 18029460
- 159 Mello PA, Naves LA, Pereira Neto A, Oliveira EH, Ferreira IC, Araújo Júnior AS, Onishi FJ, Casulari LA. Clinical and laboratorial characterization and post-surgical follow-up of 87 patients with non-functioning pituitary macroadenomas. *Arq Neuropsiquiatr*. 2013 May;71(5):307-12. PubMed PMID: 23689408
- 160 Colao A, Di Somma C, Pivonello R, Faggiano A, Lombardi G, Savastano S. Medical therapy for clinically non-functioning pituitary adenomas. *Endocr Relat Cancer*. 2008 Dec;15(4):905-15. doi: 10.1677/ERC-08-0181. Epub 2008 Sep 9. Review. PubMed PMID: 18780796
- 161 Garcia EC, Naves LA, Silva AO, de Castro LF, Casulari LA, Azevedo MF. Short-term treatment with cabergoline can lead to tumor shrinkage in patients with nonfunctioning pituitary adenomas. *Pituitary*. 2013 Jun;16(2):189-94. doi: 10.1007/s11102-012-0403-y. PubMed PMID: 22740242
- 162 Colao A, Filippella M, Pivonello R, Di Somma C, Faggiano A, Lombardi G. Combined therapy of somatostatin analogues and dopamine agonists in the treatment of pituitary tumours. *Eur J Endocrinol*. 2007 Apr;156 Suppl 1:S57-63. Review. Erratum in: *Eur J Endocrinol*. 2007 Oct;157(4):543. PubMed PMID: 17413190
- 163 Banasiak MJ, Malek AR. Nelson syndrome: comprehensive review of pathophysiology, diagnosis, and management. *Neurosurg Focus*. 2007;23(3):E13. Review. PubMed PMID: 17961028
- 164 Wagenmakers MA, Boogaarts HD, Roerink SH, Timmers HJ, Stikkelbroeck NM, Smit JW, van Lindert EJ, Netea-Maier RT, Grotenhuis JA, Hermus AR. Endoscopic transsphenoidal pituitary surgery: a good and safe primary treatment option for Cushing's disease, even in case of macroadenomas or invasive adenomas. *Eur J Endocrinol*. 2013 Aug 28;169(3):329-37. doi: 10.1530/EJE-13-0325. Print 2013 Sep. PubMed PMID: 23786985
- 165 Pereira AM, Biermasz NR. Treatment of nonfunctioning pituitary adenomas: what were the contributions of the last 10 years? A critical view. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2012 Apr;73(2):111-6. doi: 10.1016/j.ando.2012.04.002. Epub 2012 Apr 26. Review. PubMed PMID: 22542000
- 166 Verma J, McCutcheon IE, Waguespack SG, Mahajan A. Feasibility and outcome of re-irradiation in the treatment of multiply recurrent pituitary adenomas. *Pituitary*. 2014 Dec;17(6):539-45. doi: 10.1007/s11102-013-0541-x. PubMed PMID: 24272035

- 167 Maclean J, Aldridge M, Bomanji J, Short S, Fersht N. Peptide receptor radionuclide therapy for aggressive atypical pituitary adenoma/carcinoma: variable clinical response in preliminary evaluation. *Pituitary*. 2014 Dec;17(6):530-8. doi: 10.1007/s11102-013-0540-y. PubMed PMID: 24323313
- 168 Mrugala MM, Chamberlain MC. Mechanisms of disease: temozolomide and glioblastoma--look to the future. *Nat Clin Pract Oncol*. 2008 Aug;5(8):476-86. doi: 10.1038/ncponc1155. Epub 2008 Jun 10. Review. PubMed PMID: 18542116
- 169 Kovacs K, Scheithauer BW, Lombardero M, McLendon RE, Syro LV, Uribe H, Ortiz LD, Penagos LC. MGMT immunoexpression predicts responsiveness of pituitary tumors to temozolomide therapy. *Acta Neuropathol*. 2008 Feb;115(2):261-2. Epub 2007 Oct 10. PubMed PMID: 17926052
- 170 Salehi F, Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Syro LV, Sharma S, Manoranjan B, Cusimano M. O-6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) immunohistochemical expression in pituitary corticotroph adenomas. *Neurosurgery*. 2012 Feb;70(2):491-6; discussion 496. doi: 10.1227/NEU.0b013e318230ac63. PubMed PMID: 21822153
- 171 Heaney AP. Clinical review: Pituitary carcinoma: difficult diagnosis and treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Dec;96(12):3649-60. doi: 10.1210/jc.2011-2031. Epub 2011 Sep 28. Review. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Mar;97(3):1064. PubMed PMID: 21956419
- 172 Kovacs K, Horvath E. Effects of medical therapy on pituitary tumors. *Ultrastruct Pathol*. 2005 May-Aug;29(3-4):163-7. PubMed PMID: 16036872
- 173 Syro LV, Uribe H, Penagos LC, Ortiz LD, Fadul CE, Horvath E, Kovacs K. Antitumour effects of temozolomide in a man with a large, invasive prolactin-producing pituitary neoplasm. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006 Oct;65(4):552-3. PubMed PMID: 16984254
- 174 Kovacs K, Horvath E, Syro LV, Uribe H, Penagos LC, Ortiz LD, Fadul CE. Temozolomide therapy in a man with an aggressive prolactin-secreting pituitary neoplasm: Morphological findings. *Hum Pathol*. 2007 Jan;38(1):185-9. Epub 2006 Oct 23. Erratum in: *Hum Pathol*. 2007 Mar;38(3):526. PubMed PMID: 17056093
- 175 Syro LV, Ortiz LD, Scheithauer BW, Lloyd R, Lau Q, Gonzalez R, Uribe H, Cusimano M, Kovacs K, Horvath E. Treatment of pituitary neoplasms with temozolomide: a review. *Cancer*. 2011 Feb 1;117(3):454-62. doi: 10.1002/cncr.25413. Epub 2010 Sep 15. Review. PubMed PMID: 20845485
- 176 Moshkin O, Syro LV, Scheithauer BW, Ortiz LD, Fadul CE, Uribe H, Gonzalez R, Cusimano M, Horvath E, Rotondo F, Kovacs K. Aggressive silent corticotroph adenoma progressing to pituitary carcinoma: the role of temozolomide therapy. *Hormones (Athens)*. 2011 Apr-Jun;10(2):162-7. PubMed PMID: 21724542
- 177 Ortiz LD, Syro LV, Scheithauer BW, Ersen A, Uribe H, Fadul CE, Rotondo F, Horvath E, Kovacs K. Anti-VEGF therapy in pituitary carcinoma. *Pituitary*. 2012 Sep;15(3):445-9. doi: 10.1007/s11102-011-0346-8. PubMed PMID: 21918831
- 178 Jouanneau E, Wierinckx A, Ducray F, Favrel V, Borson-Chazot F, Honnorat J, Trouillas J, Raverot G. New targeted therapies in pituitary carcinoma resistant to temozolomide.

- Pituitary. 2012 Mar;15(1):37-43. doi: 10.1007/s11102-011-0341-0. PubMed PMID: 21858654
- 179 Fukuoka H, Cooper O, Ben-Shlomo A, Mamelak A, Ren SG, Bruyette D, Melmed S. EGFR as a therapeutic target for human, canine, and mouse ACTH-secreting pituitary adenomas. *J Clin Invest*. 2011 Dec;121(12):4712-21. doi: 10.1172/JCI60417. Epub 2011 Nov 21. PubMed PMID: 22105169
- 180 Fukuoka H, Cooper O, Mizutani J, Tong Y, Ren SG, Bannykh S, Melmed S. HER2/ErbB2 receptor signaling in rat and human prolactinoma cells: strategy for targeted prolactinoma therapy. *Mol Endocrinol*. 2011 Jan;25(1):92-103. doi: 10.1210/me.2010-0353. Epub 2010 Nov 24. PubMed PMID: 21106881
- 181 Lyseen AK, Nøhr C, Sørensen EM, Gudes O, Geraghty EM, Shaw NT, Bivona-Tellez C; IMIA Health GIS Working Group. A Review and Framework for Categorizing Current Research and Development in Health Related Geographical Information Systems (GIS) Studies. *Yearb Med Inform*. 2014 Aug 15;9:110-24. doi: 10.15265/IY-2014-0008. PubMed PMID: 25123730
- 182 Graves BA. Integrative literature review: a review of literature related to geographical information systems, healthcare access, and health outcomes. *Perspect Health Inf Manag*. 2008 Jul 29;5:11. Review. PubMed PMID: 18698429
- 183 Rytönen MJ. Not all maps are equal: GIS and spatial analysis in epidemiology. *Int J Circumpolar Health*. 2004 Mar;63(1):9-24. Review. PubMed PMID: 15139238
- 184 Yang K, Sun LP, Huang YX, Yang GJ, Wu F, Hang DR, Li W, Zhang JF, Liang YS, Zhou XN. A real-time platform for monitoring schistosomiasis transmission supported by Google Earth and a web-based geographical information system. *Geospat Health*. 2012 May;6(2):195-203. PubMed PMID: 22639121
- 185 Vally H, Peel M, Dowse GK, Cameron S, Codde JP, Hanigan I, Lindsay MD. Geographic Information Systems used to describe the link between the risk of Ross River virus infection and proximity to the Leschenault estuary, WA. *Aust N Z J Public Health*. 2012 Jun;36(3):229-35. doi: 10.1111/j.1753-6405.2012.00869.x. PubMed PMID: 22672028
- 186 Machado da Silva AV, Magalhães Mde A, Peçanha Brazil R, Carreira JC. Ecological study and risk mapping of leishmaniasis in an endemic area of Brazil based on a geographical information systems approach. *Geospat Health*. 2011 Nov;6(1):33-40. PubMed PMID: 22109861
- 187 Gao S, Mioc D, Anton F, Yi X, Coleman DJ. Online GIS services for mapping and sharing disease information. *Int J Health Geogr*. 2008 Feb 25;7:8. doi: 10.1186/1476-072X-7-8. PubMed PMID: 18298859
- 188 Elebead FM, Hamid A, Hilmi HS, Galal H. Mapping cancer disease using geographical information system (GIS) in Gezira State-Sudan. *J Community Health*. 2012 Aug;37(4):830-9. doi: 10.1007/s10900-011-9517-9. PubMed PMID: 22227773
- 189 Curtis AJ, Lee WA. Spatial patterns of diabetes related health problems for vulnerable populations in Los Angeles. *Int J Health Geogr*. 2010 Aug 27;9:43. doi: 10.1186/1476-072X-9-43. PubMed PMID: 20796322
- 190 Geraghty EM, Balsbaugh T, Nuovo J, Tandon S. Using Geographic Information Systems (GIS) to assess outcome disparities in patients with type 2 diabetes and hyperlipidemia.

- J Am Board Fam Med. 2010 Jan-Feb;23(1):88-96. doi: 10.3122/jabfm.2010.01.090149. PubMed PMID: 20051547
- 191 Thornton LE, Pearce JR, Kavanagh AM. Using Geographic Information Systems (GIS) to assess the role of the built environment in influencing obesity: a glossary. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2011 Jul 1;8:71. doi: 10.1186/1479-5868-8-71. Review. PubMed PMID: 21722367
- 192 Institute of Medicine (US) Committee on Health Research and the Privacy of Health Information: The HIPAA Privacy Rule; Nass SJ, Levit LA, Gostin LO, editors. *Beyond the HIPAA Privacy Rule: Enhancing Privacy, Improving Health Through Research*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2009. PubMed PMID: 20662116.
- 193 Armstrong MP, Rushton G, Zimmerman DL. Geographically masking health data to preserve confidentiality. *Stat Med*. 1999 Mar 15;18(5):497-525. Review. PubMed PMID: 10209808
- 194 Jenks, GF. "The Data Model Concept in Statistical Mapping". *International Yearbook of Cartography*. 1967; 7:186–190
- 195 R. McMaster, "In memoriam: George F. Jenks (1916–1996)," *Cartography and Geographic Information Science*, vol. 24, no. 1, pp. 56–59, 1997.
- 196 A. Agresti, *An Introduction to Categorical Data Analysis*, chapter 4, John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 2nd edition, 2007.
- 197 Cross SS, Start RD, Smith JH. Does delay in fixation affect the number of mitotic figures in processed tissue? *J Clin Pathol*. 1990 Jul;43(7):597-9. PubMed PMID: 2199539
- 198 Salehi F, Agur A, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV, Cusimano M. Biomarkers of pituitary neoplasms: a review (Part II). *Neurosurgery*. 2010 Dec;67(6):1790-8; discussion 1798. doi: 10.1227/NEU.0b013e3181faa680. Review. PubMed PMID: 21107210
- 199 Ozer E, Canda MS, Ulukus C, Guray M, Erbayraktar S. Expression of Bcl-2, Bax and p53 proteins in pituitary adenomas: an immunohistochemical study. *Tumori*. 2003 Jan-Feb;89(1):54-9. PubMed PMID: 12729363
- 200 Chatzellis E, Alexandraki KI, Androulakis II, Kaltsas G. Aggressive pituitary tumors. *Neuroendocrinology*. 2015;101(2):87-104. doi: 10.1159/000371806. Epub 2015 Jan 5. Review. PubMed PMID: 25571935
- 201 Kovacs K. The 2004 WHO classification of pituitary tumors: comments. *Acta Neuropathol*. 2006 Jan;111(1):62-3. Epub 2005 Nov 29. PubMed PMID: 16315073
- 202 Righi A, Agati P, Sisto A, Frank G, Faustini-Fustini M, Agati R, Mazzatenta D, Farnedi A, Menetti F, Marucci G, Foschini MP. A classification tree approach for pituitary adenomas. *Hum Pathol*. 2012 Oct;43(10):1627-37. doi: 10.1016/j.humpath.2011.12.003. Epub 2012 Mar 23. PubMed PMID: 22446019
- 203 Chiloiro S, Bianchi A, Doglietto F, de Waure C, Giampietro A, Fusco A, Iacovazzo D, Tartaglione L, Di Nardo F, Signorelli F, Lauriola L, Anile C, Rindi G, Maira G, Pontecorvi A, De Marinis L. Radically resected pituitary adenomas: prognostic role of Ki 67 labeling index in a monocentric retrospective series and literature review. *Pituitary*. 2014 Jun;17(3):267-76. doi: 10.1007/s11102-013-0500-6. Review. PubMed PMID: 23828322

- 204 Lath R, Chacko G, Chandy MJ. Determination of Ki-67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody. *Neurol India*. 2001 Jun;49(2):144-7. PubMed PMID: 11447433
- 205 Paek KI, Kim SH, Song SH, Choi SW, Koh HS, Youm JY, Kim Y. Clinical significance of Ki-67 labeling index in pituitary macroadenoma. *J Korean Med Sci*. 2005 Jun;20(3):489-94. PubMed PMID: 15953875
- 206 Pan LX, Chen ZP, Liu YS, Zhao JH. Magnetic resonance imaging and biological markers in pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space. *J Neurooncol*. 2005 Aug;74(1):71-6. PubMed PMID: 16078111
- 207 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH & Theise ND (eds) 2010 WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC.
- 208 Sánchez-Ortiga R, Sánchez-Tejada L, Moreno-Perez O, Riesgo P, Niveiro M, Picó Alfonso AM. Over-expression of vascular endothelial growth factor in pituitary adenomas is associated with extrasellar growth and recurrence. *Pituitary*. 2013 Sep;16(3):370-7. doi: 10.1007/s11102-012-0434-4. PubMed PMID: 22990332
- 209 LeRiche VK, Asa SL, Ezzat S. Epidermal growth factor and its receptor (EGF-R) in human pituitary adenomas: EGF-R correlates with tumor aggressiveness. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Feb;81(2):656-62. PubMed PMID: 8636285
- 210 Gomez-Hernandez K, Ezzat S, Asa SL, Mete Ö. Clinical Implications of Accurate Subtyping of Pituitary Adenomas: Perspectives from the Treating Physician. *Turk Patoloji Derg*. 2015;31 Suppl 1:4-17. doi: 10.5146/tjpath.2015.01311. Review. PubMed PMID: 26177314
- 211 Sarkar S, Chacko AG, Chacko G. An analysis of granulation patterns, MIB-1 proliferation indices and p53 expression in 101 patients with acromegaly. *Acta Neurochir (Wien)*. 2014 Dec;156(12):2221-30; discussion 2230. doi: 10.1007/s00701-014-2230-6. Epub 2014 Sep 21. PubMed PMID: 25238988.
- 212 Mastronardi L, Guiducci A, Puzzilli F. Lack of correlation between Ki-67 labelling index and tumor size of anterior pituitary adenomas. *BMC Cancer*. 2001;1:12. Epub 2001 Aug 21. PubMed PMID: 11570981
- 213 Madsen C, Schrøder HD. Ki-67 immunoreactivity in meningiomas--determination of the proliferative potential of meningiomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Clin Neuropathol*. 1997 May-Jun;16(3):137-42. PubMed PMID: 9197938
- 214 Roelfsema F, Biermasz NR, Pereira AM. Clinical factors involved in the recurrence of pituitary adenomas after surgical remission: a structured review and meta-analysis. *Pituitary*. 2012 Mar;15(1):71-83. doi: 10.1007/s11102-011-0347-7. Review. PubMed PMID: 21918830
- 215 Wolfsberger S, Knosp E. Comments on the WHO 2004 classification of pituitary tumors. *Acta Neuropathol*. 2006 Jan;111(1):66-7. Epub 2005 Nov 23. PubMed PMID: 16328524
- 216 Raverot G, Jouanneau E, Trouillas J. Management of endocrine disease: clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol*. 2014 Mar 13;170(4):R121-32. doi: 10.1530/EJE-13-1031. Print 2014 Apr. Review. PubMed PMID: 24431196

- 217 Daly AF, Beckers A. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015 Mar;44(1):19-25. doi: 10.1016/j.ecl.2014.10.002. Epub 2014 Nov 4. Review. PubMed PMID: 25732638.

9 ANEXOS

ANEXO 1 – Interpretação de análise imunohistoquímica dos adenomas hipofisários

Anexo 1.1 - Anticorpos, clones e diluições para avaliação histológica

Anticorpos (Dako Corporation)	Clones	Diluição
Anti-PRL	Policlonal	1:300
Anti-GH	Policlonal	1:150
Anti-FSH	Policlonal	1:150
Anti-LH	Policlonal	1:800
Anti-ACTH	Policlonal	1:300
Anti-TSH	Policlonal	1:700
p53	DO7	1:50
Ki-67	MIB-1	1:50
c-erbB2	Policlonal	1:50

Adaptado de Botelho, CH et al. Arquivos de Neuro-Psiquiatria 64, 60–66 (2006).¹³⁵

Anexo 1.2 – Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a secreção hormonal

Anticorpos Anti-GH, PRL, FSH, LH, TSH e ACTH (positividade: coloração citoplasmática)

- 1+** Menos de 10% das células com reação positiva
 - 2+** Entre 10 e 20% das células com reação positiva
 - 3+** Entre 21 e 50% das células com reação positiva
 - 4+** Mais que 51% das células com reação positiva
-

Adaptado de Botelho, CH et al. Arquivos de Neuro-Psiquiatria 64, 60–66 (2006).¹³⁵

Anexo 1.3 - Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a presença dos marcadores tumorais p53 e Ki-67

p53 e Ki-67 (positividade: coloração nuclear)

- 0+** Ausência completa de positividade nas células tumorais
 - 1+** Imunoexpressão em menos de 10% das células tumorais
 - 2+** Imunoexpressão entre 10 e 25% das células tumorais
 - 3+** Imunoexpressão entre 25 e 50% das células tumorais
 - 4+** Imunoexpressão em mais que 50% das células tumorais
-

Adaptado de Botelho, CH et al. Arquivos de Neuro-Psiquiatria 64, 60–66 (2006).¹³⁵

Anexo 1.4 - Interpretação de análise imunohistoquímica quanto a presença do marcador tumoral c-erbB2

c-erbB2 (positividade: coloração de membrana celular)

- 0+** Ausência de positividade em mais de 90% das células tumorais

 - 1+** Discreta positividade em mais de 10% das células tumorais

 - 2+** Discreta a moderada positividade em mais de 10% das células tumorais

 - 3+** Intensa ou completa positividade em mais de 10% das células tumorais
-

Adaptado de Botelho, CH et al. Arquivos de Neuro-Psiquiatria 64, 60–66 (2006).¹³⁵

10 PUBLICAÇÕES CORRELATAS

Zakir JC, Casulari LA, Rosa JW, Rosa JW, de Mello PA, de Magalhães AV, Naves LA. Prognostic Value of Invasion, Markers of Proliferation, and Classification of Giant Pituitary Tumors, in a Georeferred Cohort in Brazil of 50 Patients, with a Long-Term Postoperative Follow-Up. *Int J Endocrinol.* 2016;2016:7964523. doi: 10.1155/2016/7964523. Epub 2016 Aug 18. PubMed PMID: 27635138

Naves LA, Daly AF, Dias LA, Yuan B, **Zakir JC**, Barra GB, Palmeira L, Villa C, Trivellin G, Júnior AJ, Neto FF, Liu P, Pellegata NS, Stratakis CA, Lupski JR, Beckers A. Aggressive tumor growth and clinical evolution in a patient with X-linked acro-gigantism syndrome. *Endocrine*. 2016 Feb;51(2):236-44. doi: 10.1007/s12020-015-0804-6. Epub 2015 Nov 25. PubMed PMID: 26607152

Naves LA, **Zakir JCO**, Vilar L. Adenomas hipofisários familiares: investigação clínica e laboratorial. In: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia; Czepielewski MA, Meirelles R, Carvalho GA, organizadores. PROENDÓCRINO Programa de Atualização em Endocrinologia e Metabologia: Ciclo 7. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2016. p. 9-30. (Sistema de Educação Continuada a Distância, v. 3).