

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

SCIENZE MEDICHE VETERINARIE

Ciclo XXVII

Settore Concorsuale di afferenza: 07/H5

Settore Scientifico disciplinare: Vet/09

Titolo Tesi:

GESTIONE PRE, INTRA E POST-OPERATORIA DEL CANE SOTTOPOSTO
AD IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE

Presentata da: DOTT.SSA SARA DEL MAGNO

Coordinatore Dottorato

Relatore

Chiar.mo Prof. Carlo Tamanini

Dott. Luciano Pisoni

Esame finale anno 2015

Sommario

1.INTRODUZIONE.....	3
2. REVIEW: IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE NEL CANE	6
3. SINGLE AND MULTIPLE SLICE DYNAMIC COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE PITUITARY GLAND IN DOGS WITH PITUITARY-DEPENDENT HYPERCORTISOLISM.	33
4.IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE IN UN CANE CON IPERCORTISOLISMO E SINTOMI NEUROLOGICI SECONDARI A MACROADENOMA IPOFISARIO	55
5. TRANSSPHENOIDAL HYPOPHYSECTOMY AND RADIOTHERAPY FOR THE LONG-TERM MANAGEMENT OF A PITUITARY MAROADENOMA IN A DOG.....	80
6. IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE NEL CANE: 8 INTERVENTI CHIRURGICI.	97
7. CONCLUSIONI	126

1.INTRODUZIONE

Questa tesi riassume il lavoro svolto durante i tre anni di dottorato riguardanti l'ipofisectomia transfenoidale e la gestione dei macroadenomi ipofisari nel cane.

Gli adenomi ipofisari sono una patologia piuttosto frequente nel cane, infatti si stima che 1-2 cani su 1000 sviluppino ipercortisolismo o Sindrome di Cushing. Di questi circa l'85% è causato da un tumore ipofisario che secreta ormone adrenocorticotropo (ACTH) in eccesso. Questa patologia viene quindi definita come ipercortisolismo ipofisi-dipendente (PDH). Accanto ai tumori ACTH-secerenti, possono essere presenti dei tumori ipofisari non-secerenti o raramente delle neoplasie che secernono altri ormoni ipofisari. Circa il 20-30% di questi casi presenta una neoplasia di dimensioni tali da deformare le dimensioni dell'ipofisi. Inoltre il 10-20% dei cani mostra al momento della diagnosi una sintomatologia neurologica evidente (Felman e Nelson, 2004). Ad oggi l'approccio terapeutico più diffuso, soprattutto nei riguardi delle neoplasie ACTH-secerenti, è la terapia medica che mira a ridurre l'ipersecrezione di corticosteroidi a livello surrenalico. Questa terapia riduce nella maggior parte dei casi i sintomi legati alla Sindrome di Cushing; non risolve tuttavia, nemmeno parzialmente, né la sintomatologia neurologica né la causa della patologia, cioè il tumore ipofisario.

Vista la sempre maggiore disponibilità della diagnostica per immagini avanzata, quali la tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica nucleare, è sempre corretto suggerirla a proprietari di animali colpiti da questo tipo di patologie ipofisarie.

Per quanto riguarda le neoplasie ipofisarie, queste sono nella maggior parte benigne. Tuttavia, vista la loro possibile crescita all'interno della scatola cranica, possono determinare alterazioni neurologiche importanti per l'effetto compressivo sul tessuto cerebrale circostante la ghiandola. In corso di sintomatologia neurologica le uniche opzioni terapeutiche in grado di ridurre la compressione sono la chirurgia e la radioterapia. In questa tesi viene analizzata la letteratura in merito la chirurgia

ipofisaria, con particolare riferimento alle le possibili complicazioni intra e post-operatorie. Viene poi descritta l'esperienza acquisita a riguardo presso l'Ospedale Didattico "G.Gentile" dalla fine del 2011 all'inizio del 2015.

Nel cane, al contrario dell'uomo, l'intervento chirurgico a livello ipofisario mira a rimuovere completamente la ghiandola, inducendo così un panipopituitarismo post-operatorio che richiede una supplementazione ormonale a vita. Nell'uomo, ove è possibile, si mira invece ad asportare solo la neoplasia e lasciare intatta la restante porzione di ghiandola. Al fine di arrivare anche in medicina Veterinaria ad asportare esclusivamente la neoplasia è stato condotto uno studio, in collaborazione con la Facoltà di Medicina Veterinaria di Utrecht (Paesi Bassi), sugli aspetti tomografici nei cani affetti da PDH finalizzato ad individuare prima della chirurgia l'esatta posizione dell'adenoma, per poter eventualmente guidare il chirurgo durante l'exeresi.

Nella tesi viene inoltre descritto il primo intervento chirurgico d'ipofisectomia transfenoidale nel cane eseguito con successo in Italia. Vista la recidiva della neoplasia ipofisaria in questo soggetto, tale paziente è stato operato una seconda volta.

La combinazione di chirurgia e radioterapia nella gestione di macroadenomi ipofisari è stata descritta in medicina umana (Biller et al, 2008), ma non in medicina veterinaria. In questa tesi viene descritto il caso clinico di un cane nel quale l'associazione delle due metodiche terapeutiche ha permesso un tempo di sopravvivenza di 7 anni dall'insorgenza dei sintomi neurologici. Questo caso, del quale è stata effettuata la necropsia, ha inoltre evidenziato che alcune neoplasie, in particolar modo le recidive, considerate istologicamente come benigne, possano avere un comportamento più aggressivo e ha fatto nascere la necessità di individuare marker per individuare precocemente gli adenomi con comportamento atipico.

L'ultimo capitolo racchiude l'esperienza clinica nella gestione operatoria e perioperatoria di cani con macroadenoma ipofisario, sottoposti ad ipofisectomia transfenoidale presso l'Ospedale Didattico "G.Gentile".

1. Feldman EC, Nelson RW. Canine and feline endocrinology and reproduction, 3rd edn. W.B. Saunders, Philadelphia, PA 2004.
2. Biller BM, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, Buchfelder M, Colao A, Hermus AL, Hofland LJ, Kilbanski A, Lacroix A, Lindsay JR, Newell-Price J, Nieman LK, Petersenn S, Sonino N, Stalla GK, Swearingen B, Vance ML, Wass JA, Boscaro M. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93: 2454-2462, 2008.

2. REVIEW: IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE NEL CANE

REVIEW: TRANSSPHENOIDAL HYPOPHYSECTOMY IN THE DOG

Del Magno S., Pisoni L.

Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum, Ozzano dell'Emilia (BO)

Articolo commissionato dalla rivista Veterinaria e inviato per la revisione.

Riassunto

L'ipofisectomia transfenoidale rappresenta una terapia efficace per il trattamento degli adenomi ipofisari; tuttavia pochi centri veterinari propongono questa opzione terapeutica.

La tecnica chirurgica prevede un approccio transorale, transfenoidale con rimozione completa della ghiandola ipofisaria. In caso di macroadenomi il chirurgo mira ad asportare quanto più tessuto neoplastico possibile per migliorare e prolungare la vita del paziente.

La diagnostica per immagini avanzata è necessaria per ottenere una localizzazione precisa della fossa ipofisaria e informazioni dettagliate sulla forma, dimensioni ed estensione della neoplasia.

Nonostante le difficoltà gestionali del paziente, la percentuale di mortalità perioperatoria riportata risulta contenuta (da 8-16%) così come la percentuale di recidive. Quest'ultima aumenta in caso di macroadenomi.

Lo scopo di questa review è di analizzare la tecnica chirurgica e la gestione del paziente nel periodo perioperatorio, evidenziando la necessità di una curva di apprendimento per l'esecuzione della chirurgia e la gestione perioperatoria da parte di più specialisti.

Summary

Transsphenoidal hypophysectomy is an effective therapy for the treatment of pituitary adenomas; although few veterinary hospitals suggest this therapeutic option.

The surgical technique consists of a transoral, transsphenoidal approach with the complete removal of the pituitary gland. In case of macroadenomas the surgeon aims to remove the most part possible of neoplastic tissue to improve and prolong the patient's life.

Advanced diagnostic imaging is necessary to obtain a precise localization of the *fossa hypophysialis* and detailed information about shape, dimension and extension of the neoplasia.

Despite the difficulties in the management of the patient, the percentage of perioperative mortality is restrained (8-16%), as well as the percentage of recurrences. Recurrence rate raises in case of macroadenoma.

The purpose of the review is to analyze the surgical technique and the management of the patient in the perioperative period. A learning curve for the execution of surgery and for the perioperative management by different specialists is needed.

Parole chiave: ipofisectomia transfenoidale, cane, chirurgia, sindrome di Cushing, ipercortisolismo

Key Words: transsphenoidal hypophysectomy, dog, surgery, Cushing syndrome, hypercortisolism

Introduzione

L'ipofisectomia transfenoidale è una tecnica chirurgica poco diffusa in ambito veterinario. Nell'uomo, invece, l'asportazione chirurgica della neoplasia ipofisaria, in corso di Malattia di Cushing, rappresenta il gold-standard e viene praticata solitamente per via endoscopica in centri specializzati^{1,2}.

Nel cane sono riportati in letteratura circa 300 casi di ipofisectomia, tuttavia pochi centri al mondo eseguono questa tecnica chirurgica routinariamente^{3,4,5,6,7}.

Nel cane le neoplasie ipofisarie sono piuttosto comuni a causa dell'elevata incidenza dei tumori ipofisari secernenti ormone adrenocorticotropo (ACTH) responsabili della sindrome di Cushing. Sono stati inoltre riportati casi di neoplasie ipofisarie secernenti altri ormoni ipofisari quali alfa-melanotropina (alfa-MSH) e ormone somatotropo (GH), la presenza di più tumori concomitanti, nonché neoplasie non ormono-secernenti⁸.

La sintomatologia varia a seconda del tipo di ormone secreto, possono risultare quindi evidenti segni d'ipercortisolismo, di acromegalia, di deficienze ormonali o manifestazioni neurologiche. Queste ultime possono sovrapporsi alla sintomatologia da eccessiva o carente secrezione ormonale, oppure presentarsi singolarmente in seguito alla compressione sulle strutture cerebrali circostanti.

La maggior parte delle neoplasie ipofisarie è rappresentata da adenomi, che presentano quindi un comportamento benigno; tuttavia, nell'ambito degli adenomi le velocità di crescita tumorale risultano variabili. In letteratura sono inoltre stati descritti casi di adenomi definiti invasivi per la presenza di infiltrazione dei tessuti limitrofi⁹. Si parla di adenocarcinomi solo quando sono presenti concomitanti metastasi intracerebrali o a distanza¹⁰. Un altro criterio di classificazione per le neoplasie ipofisarie è dato dalle dimensioni. Nell'uomo le masse ipofisarie vengono distinte in micro e macroadenomi sulla base dell'altezza dell'ipofisi. Si considerano microadenomi le neoplasie che non determinano un aumento di volume dell'ipofisi, che normalmente ha un'altezza < 10 mm; al contrario, se l'altezza

della ghiandola supera i 10 mm, vengono definiti macroadenomi. Nel cane il valore di cut-off per discriminare i micro dai macroadenomi non è universalmente accettato; ciò è in parte legato alle notevoli diversità morfologiche del cranio nelle varie razze. Kooistra e coll.¹¹ hanno proposto di suddividere le neoplasie ipofisarie in micro e in macroadenomi sulla base del rapporto tra l'altezza dell'ipofisi e l'area cerebrale, misurate entrambe nella stessa scansione trasversale TC in cui l'ipofisi presenta le maggiori dimensioni. Questo rapporto prende il nome di Pituitary/Brain (P/B) value e un valore di 0.31 è stato individuato quale "spartiacque" tra i microadenomi (P/B value \leq 0.31) ed i macroadenomi (P/B value $>$ 0.31).

Le tecniche di diagnostica per immagini avanzata, quali la tomografia computerizzata (TC) o la risonanza magnetica nucleare (RMN), permettono solitamente di confermare la diagnosi clinica e laboratoristica di ipercortisolismo ipofisi-dipendente o di acromegalia ed hanno un ruolo fondamentale per la pianificazione della terapia^{12, 13, 14}.

Nell'uomo la maggior parte delle neoplasie ipofisarie ACTH-secernenti è rappresentata da microadenomi. Questi tumori solitamente non metastatizzano e causano uno stato di ipercortisolismo conseguente all'ipersecrezione di ACTH. Il chirurgo umano mira ad eseguire una adenomectomia, cioè a rimuovere l'adenoma, lasciando in situ la restante parte dell'ipofisi¹⁵.

Nel cane si riscontrano all'incirca con la stessa incidenza micro e macroadenomi. E' necessario asportare completamente la ghiandola per ridurre le probabilità di lasciare porzioni di tessuto tumorale con conseguente persistenza o rapida recidiva della patologia¹⁶.

Anatomia e fisiologia

L'ipofisi è una ghiandola posta ventralmente al diencefalo, all'interno della scatola cranica. E' accolta in una "culla" presente nella superficie endocranica dell'osso sfenoide definita *fossa hypophysialis* (Fig. 1, 2), chiamata invece sella turcica nell'uomo.

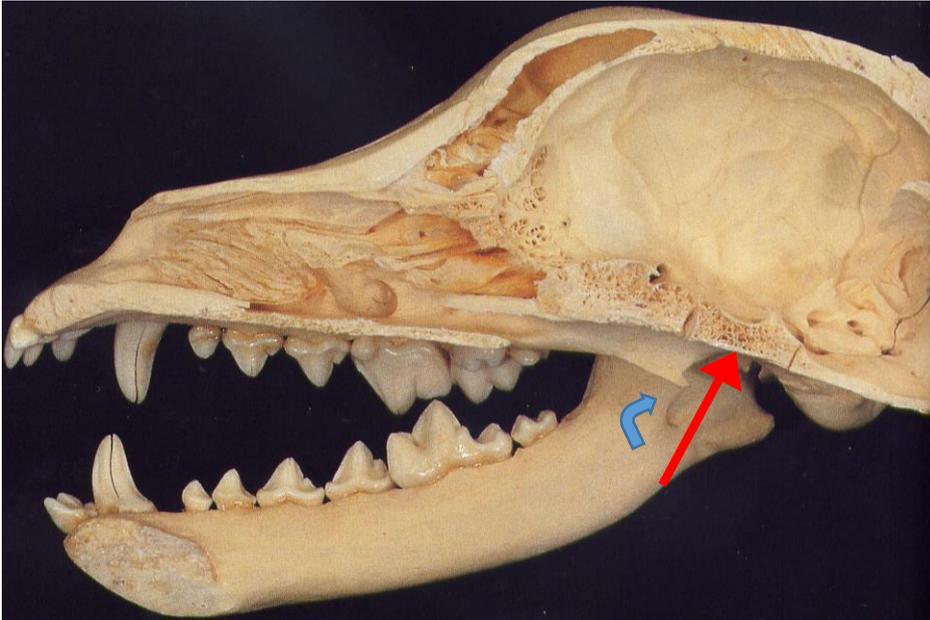


Fig.1

Cranio di cane sezionato longitudinalmente, la freccia rossa indica l'osso sfenoide che forma la *fossa hypophysialis*. La freccia azzurra indica un processo amulare, utilizzato dal chirurgo per localizzare la posizione dell'ipofisi (*Done SH, Goody PC, Evans SA, Stickland NC, Color Atlas of Veterinary Anatomy. The dog and cat, modificato*).

Questa è delimitata cranialmente dal tuberculum sellae (cranialmente al quale si trova il chiasma ottico), caudalmente dal dorsum sellae e lateralmente dai seni cavernosi, all'interno dei quali decorrono le arterie carotidi interne. Al di sopra dell'ipofisi si trova l'ipotalamo, mentre ventralmente l'osso sfenoidale separa la ghiandola dal rinofaringe.

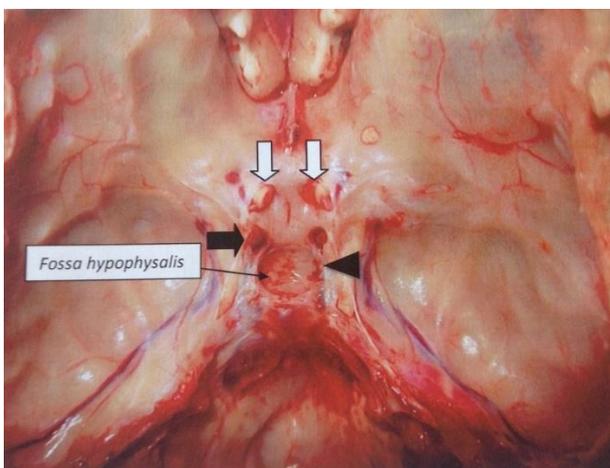


Fig. 2

Veduta dorsale della base del cranio in seguito ad asportazione dell'encefalo (è rimasta parte dei lobi olfattori). Notare i nervi ottici recisi (freccie bianche), uno dei due nervi oculo-motore reciso (freccia nera), il seno cavernoso (triangolo nero) e la fossa in cui è alloggiata l'ipofisi (*fossa hypophysialis*).

La posizione esatta della fossa, e di conseguenza della ghiandola, varia da soggetto a soggetto, soprattutto a seconda della conformazione mesocefalica, dolicocefalica o brachicefalica del cane¹⁴.

La ghiandola ipofisaria è divisa in due porzioni: l'adenoipofisi e la neuroipofisi. La prima funziona come ghiandola endocrina e secreta ormone adrenocorticotropo (ACTH), ormone tireostimolante (TSH), ormoni sessuali (LH e FSH), ormone somatotropo (GH), prolattina (PRL) e corticomelanotropine (ad esempio α -MSH). La neuroipofisi funziona invece come zona di stoccaggio per l'ossitocina e l'ormone antidiuretico (ADH), quest'ultimo viene prodotto dai nuclei sopraottico e paraventricolare dell'ipotalamo. Questi ormoni giungono poi alla neuroipofisi mediante terminazioni assoniche, qui vengono accumulate e, in caso di necessità, queste sostanze vengono riversate nel circolo ematico. Le due porzioni della ghiandola presentano due tipi di vascolarizzazione: l'adenoipofisi presenta una vascolarizzazione di tipo portale; mentre la neuroipofisi ha una vascolarizzazione arteriosa diretta.

Diagnostica per immagini

Le tecniche di diagnostica per immagini avanzata quali la TC (Fig. 3) o la RMN (Fig. 4) sono indagini collaterali molto utili per pianificare la migliore strategia terapeutica in ciascun soggetto e fondamentali ai fini chirurgici.

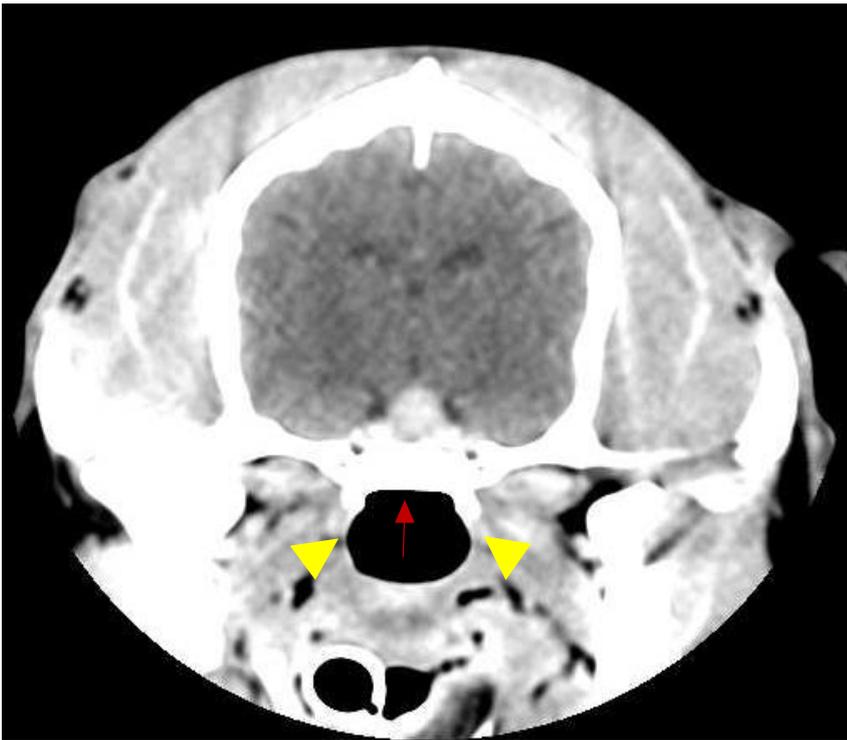
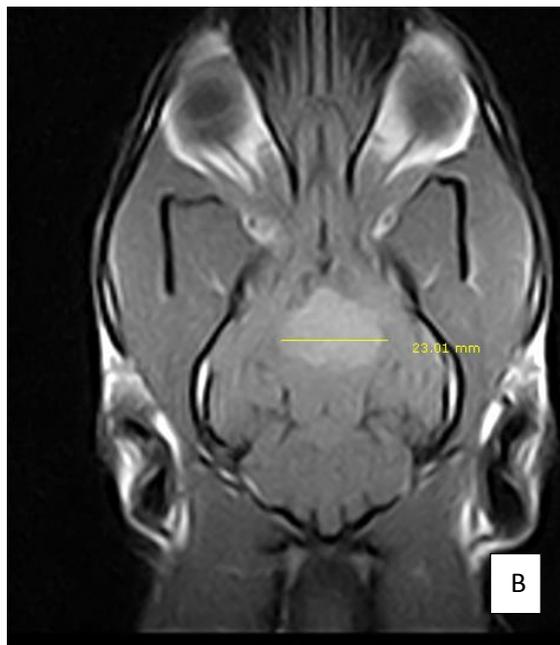
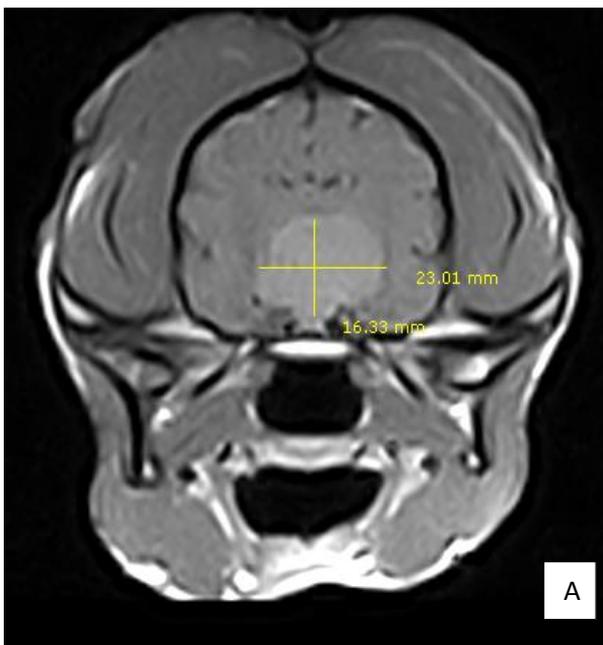


Fig. 3

Immagine di tomografia computerizzata in sezione trasversa del cranio di un cane, maschio, bassotto di 6 anni con sindrome di Cushing, dopo somministrazione di mezzo di contrasto. E' evidente un adenoma ipofisario. I triangoli gialli indicano i processi amulari, poco pronunciati perché in questa posizione sono quasi terminati; la freccia rossa indica la superficie dello sfenoide che si presenta piatta in questo caso. Questi ultimi sono i punti di repere che il chirurgo utilizza per localizzare la posizione dell'ipofisi. (Per gentile concessione della Dott.ssa Federica Rossi)



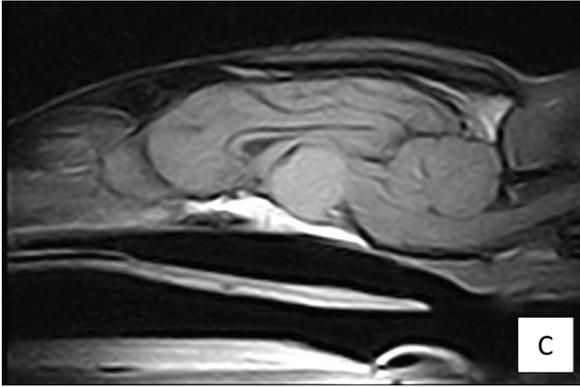


Figura 4

Risonanza magnetica del cranio di un cane, femmina, galgo spagnolo di 8 anni con sintomatologia neurologica e sindrome di Cushing. Sezione trasversa (A), coronale (B) e longitudinale (C) pesate in T1 dopo somministrazione di mezzo di contrasto, è evidente un macroadenoma ipofisario di altezza di 16,33 mm, larghezza 23 mm. (Per gentile concessione Dott.ssa Donatella Lotti)

E' stato infatti dimostrato che a causa della variabilità morfologica nelle varie razze, la posizione dell'ipofisi rispetto alle prominenze ossee del cranio, quali ad esempio i processi amulari dell'osso pterigoideo, è variabile. E' pertanto necessario valutare in ogni singolo soggetto, il rapporto tra la ghiandola neoplastica, la sella turcica e i punti di repere chirurgici. Questi ultimi sono rappresentati dai processi amulari dell'osso pterigoideo e dalla conformazione della superficie ventrale del basisfenoide^{13,14} (Fig. 3). Oltre ai punti di repere, è fondamentale per il chirurgo conoscere le dimensioni della ghiandola, la superficie di questa, la possibile estensione al di sopra del dorsum sellae ed eventuali asimmetrie.

La TC dinamica con mezzo di contrasto permette inoltre di ipotizzare la posizione della neoplasia anche se di piccole dimensioni. La neuroipofisi infatti, grazie alla vascolarizzazione arteriosa diretta, presenta una presa di contrasto intensa e ben distinguibile in fase arteriosa. Questo enhancement della neuroipofisi viene chiamato *flush sign* e in una ipofisi normale si trova al centro della sella turcica. Neoplasie anche di piccole dimensioni possono deformare il *flush sign* e il più delle volte lo deviano. Neoplasie di maggiori dimensioni possono addirittura non renderlo visibile¹⁶.

Ottenute le immagini TC o di RMN è possibile pertanto pianificare l'intervento chirurgico.

Preparazione del paziente

Nel caso in cui il cane stia assumendo del trilostano come trattamento medico per la malattia di Cushing questo deve venire sospeso circa 2 giorni prima dell'intervento. Solitamente si esegue un pannello di esami prima della chirurgia per individuare eventuali alterazioni da trattare prima dell'intervento chirurgico (Tab. 1)

Tabella 1

PROTOCOLLO DIAGNOSTICO PRE-OPERATORIO
Esame emocromocitometrico, biochimico, coagulativo completo
Esame chimico-fisico delle urine e esame batteriologico delle urine
Esame radiografico del torace
Ecografia addominale
Esame elettrocardiografico ed ecocardiografico in caso di sospette alterazioni cardiache
Misurazione della pressione arteriosa non invasiva
Prelievo per misurazione di ACTH endogeno prima della chirurgia
Tomografia computerizzata o risonanza magnetica nucleare

La chirurgia può iniziare solo dopo aver corretto eventuali squilibri elettrolitici e questi ultimi vanno monitorati durante tutta la procedura chirurgica e nel periodo post-operatorio. Nell'immediato periodo post-operatorio è infatti frequente riscontrare una tendenza all'ipernatremia a causa della

rimozione della neuroipofisi (sede di stoccaggio dell'ADH), pertanto per prevenirla è importante evitare la disidratazione. Solitamente nel periodo perioperatorio si utilizzano fluidi poveri di sodio, quali soluzioni di NaCl allo 0,45% e glucosata al 2,5% supplementate con 10 mEq di KCl/500 ml. Al fine di eseguire prelievi ematici in maniera agevole durante l'intervento chirurgico e in tutto il periodo post-operatorio, risulta utile posizionare subito dopo l'induzione dell'anestesia generale un catetere venoso centrale, il quale permette anche il monitoraggio della pressione venosa centrale. La pressione arteriosa invasiva viene invece monitorata mediante un catetere arterioso posizionato nell'arteria metatarsale, e l'output urinario viene monitorato, previa applicazione di un catetere urinario, sia durante la chirurgia che nel post-operatorio.

Anestesia

L'ipofisectomia è una chirurgia endocranica. I protocolli anestesiológicos descritti in letteratura mirano a mantenere una normale omeostasi dell'organismo¹⁴. La sedazione solitamente prevede l'utilizzo di un oppioide, ad esempio il metadone, che può essere eventualmente associato ad una benzodiazepina, quale il midazolam. Tuttavia tale protocollo può subire variazioni a seconda delle necessità. L'induzione viene fatta con propofol ad effetto, il paziente viene intubato per via oro-tracheale e l'anestesia mantenuta con isofluorano o sevofluorano o propofol in infusione continua¹⁷. L'analgesia è solitamente mantenuta con una infusione continua di fentanil a dosaggi variabili. E' bene ventilare il paziente per evitare fenomeni di ipercapnia, che potrebbero aumentare il sanguinamento nel campo operatorio¹⁸.

La profilassi antibiotica viene effettuata con un antibiotico ad ampio spettro quale amoxicillina e acido clavulanico o ampicillina e sulbactam (20 mg/kg EV). L'antibiotico viene somministrato per via endovenosa subito dopo l'induzione dell'anestesia e continuato nel periodo post-operatorio per 10 giorni.

Chirurgia

La via di accesso chirurgica, secondo la tecnica descritta da Meij¹⁴, è trans-orale, trans-sfenoidale.

Il paziente viene posizionato in decubito sternale, la testa sollevata e la mascella agganciata ad una barra di supporto orizzontale, subito dietro i canini (Fig. 5).



Figura 5

Cane, maschio, Labrador, con sintomatologia endocrina conseguente a panipopituitarismo. Posizionamento del cane in decubito sternale con la testa sollevata e la bocca aperta. La mascella viene ancorata su una barra tramite i canini, la mandibola viene posizionata mediante l'utilizzo di bende orlate. Il cranio è assicurato mediante cerotto ai supporti laterali montati sul tavolo per garantire l'immobilità della testa dell'animale. Il collo è supportato da un cuscino morbido. Il tavolo è inclinato di circa 30 gradi.

Questa posizione permette un buon flusso di sangue all'interno delle vene giugulari e facilita l'asportazione della ghiandola per gravità. E' importante posizionare dei sostegni morbidi sotto il collo per evitare eventuali contratture a carico della muscolatura cervicale. La testa deve essere immobilizzata, la disinfezione della cavità orale viene solitamente eseguita con iodio povidone diluito al 10%.

Viene quindi eseguita l'incisione a tutto spessore del palato molle in senso longitudinale sulla linea mediana, raggiungendo così l'osso sfenoide, il quale è ricoperto dal muco-periostio. Quest'ultimo

viene inciso e scollato per scoprire l'osso sottostante. A questo punto confrontando le immagini TC con l'anatomia del soggetto, si localizza la posizione dell'ipofisi rispetto ai processi amulari pterigoidei e alla conformazione della superficie ventrale dell'osso sfenoide (Fig. 3, 6).



Figura 6

Cane maschio, meticcio, di 9 anni con sintomatologia neurologica, immagine intraoperatoria. Dopo l'incisione a tutto spessore del palato molle, questo viene divaricato con un divaricatore di Gelpi, si accede così al naso faringe e risulta evidente il mucoperiosteo che ricopre l'osso sfenoide. Ai lati sono ben visibili i processi amulari.

Quest'ultimo infatti presenta frequentemente un rilievo/solco che si modifica in senso cranio-caudale.

Una volta individuata la zona corrispondente all'ipofisi l'osso viene fresato fino a giungere alla sella turcica. Mamelak e coll.⁵ hanno proposto recentemente una modifica al protocollo proposto da Meij per identificare con maggior precisione il sito di entrata e per esporre in modo più ampio possibile la fossa ipofisaria. Vengono infatti eseguiti due fori con una fresa dal diametro di 2 mm e viene eseguita una scansione CT prima di procedere alla completa apertura e all'asportazione della neoplasia. In base alla posizione dei fori rispetto alla fossa, il chirurgo amplia l'apertura nello sfenoide. Una volta raggiunta la fossa ipofisaria, viene incisa quindi la dura madre che riveste la ghiandola ventralmente. A questo punto viene effettuata l'asportazione dell'ipofisi: il debulking avviene rimuovendo la

ghiandola per frammenti soprattutto nel caso di macroadenomi, utilizzando uncini atraumatici, uncini ad anello ed aspiratore^{5,14,19} (Fig.7).

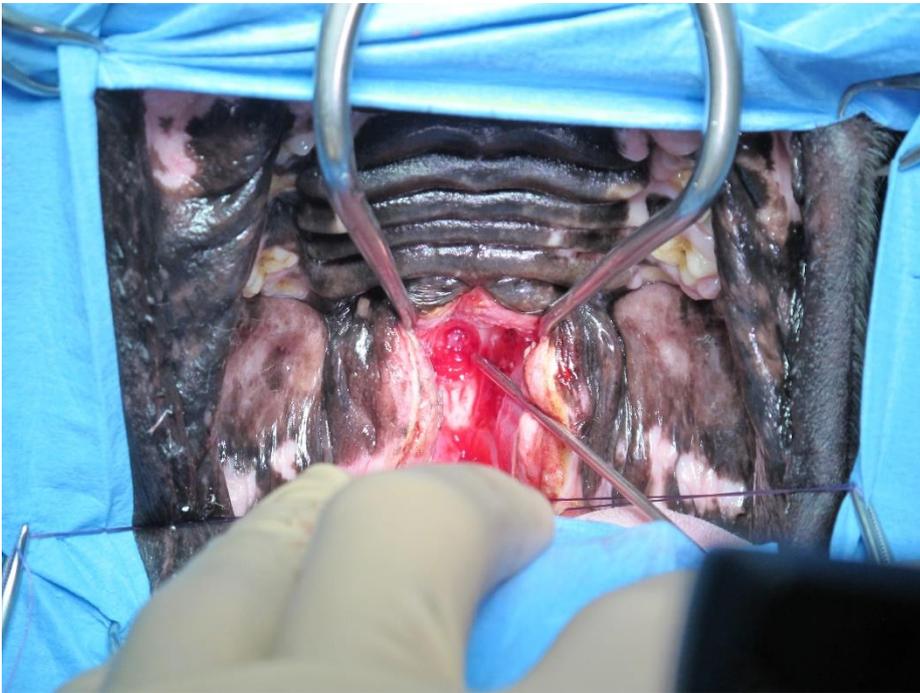


Figura 6



Cane, boxer, maschio, 6 anni, con sindrome di Cushing. Immagine intraoperatoria, notare il palato molle che è stato inciso in posizione mediana, viene tenuto represso da un divaricatore di Gelpi. Il beccuccio metallico dell'aspiratore è in direzione del foro eseguito nell'osso sfenoide in corrispondenza della ghiandola ipofisaria, che è il tessuto rosato che protrude dal foro (ingrandimento del particolare in basso a sinistra).

In caso di macroadenomi di notevoli dimensioni l'asportazione completa della neoplasia risulta difficile; a tal proposito è stato suggerito di iniziare rimuovendo la porzione centrale del tumore, che spesso presenta una consistenza geliforme, per poi muoversi alla periferia verso la capsula che presenta una consistenza maggiore. Inoltre le parti più difficili da rimuovere risultano essere quelle laterali e quella craniale al tuberculum sellae. Quindi deve essere posta particolare attenzione durante l'apertura dell'osso sfenoide per esporre al meglio queste porzioni⁵. E' importante eseguire delle

trazioni delicate per prevenire danni all'ipotalamo e ad altre strutture circostanti. La neuroipofisi, che si trova solitamente nella porzione più caudale della sella, è bene che venga lasciata come ultima parte da asportare, in quanto presentando una vascolarizzazione arteriosa diretta, potrebbe determinare un sanguinamento maggiore. Per fermare il sanguinamento è a volte possibile cauterizzare l'arteria ipofisaria caudale mediante elettrobisturi bipolare, nel caso in cui sia ben visibile. Una volta terminata l'asportazione dell'ipofisi, solitamente si visualizza dorsalmente l'ingresso del terzo ventricolo e la base dell'ipotalamo, normalmente a superficie biancastra e liscia. In questa fase può verificarsi la fuoriuscita di liquor

La fossa ipofisaria viene poi lavata per facilitare la fuoriuscita di eventuali frammenti di tessuto, ed al suo interno viene applicata una piccola sfera di gelatina emostatica per ridurre possibili piccoli sanguinamenti. L'apertura ossea viene chiusa con cera da ossa (Fig.8) ed il muco-periostio viene ricostruito per quanto possibile, al fine di mantenere in sede la cera.

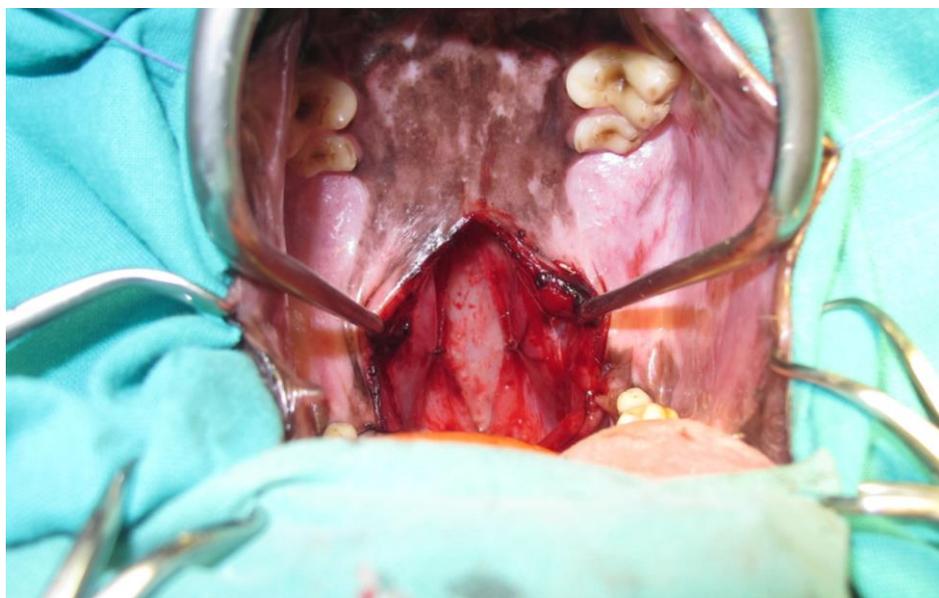


Figura 8

Cane, femmina, 8 anni, galgo spagnolo, visione intraoperatoria dopo la chiusura dello sfenoide con cera per ossa.

Il palato molle viene quindi suturato in due strati, uno sulla mucosa verso il naso-faringe con una sutura continua e l'altro sulla mucosa dell'oro-faringe con punti semplici staccati¹⁴ (Fig.9).

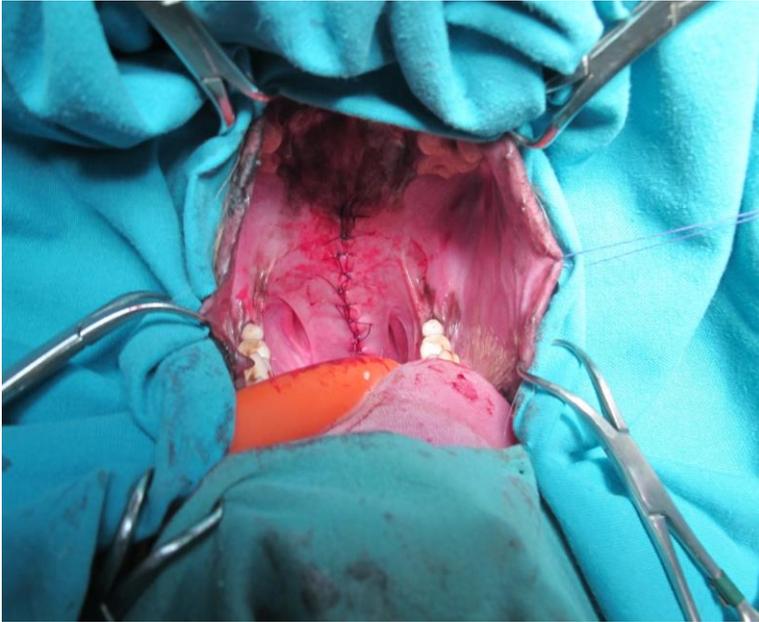


Figura 9

Cane, femmina, 8 anni, galgo spagnolo, visione intraoperatoria dopo la ricostruzione del palato molle.

Vista la particolarità dell'approccio, per eseguire questa tecnica chirurgica è bene utilizzare una magnificazione e una luce frontale. Mamelak e coll.⁵ hanno proposto l'utilizzo di un video telescopio per migliorare l'ingrandimento e l'illuminazione del campo operatorio con un ingombro minimo per il chirurgo.

Axlund e coll.¹⁹ hanno proposto un approccio alternativo a quello trans-orale: l'approccio ventrale paramediano, descritto in via sperimentale su cani sani.

Ai lati dell'ipofisi decorrono i seni cavernosi, al cui interno si trovano le arterie carotidi comuni. E' necessario evitare di ledere queste strutture poiché l'eventuale emorragia potrebbe impedire di continuare l'intervento chirurgico o mettere a rischio la vita dell'animale. A volte le neoplasie aderiscono e invadono questi vasi; in questo caso queste porzioni di neoplasia vengono lasciate in situ, nonostante possano facilitare la persistenza o una recidiva dell'ipercortisolismo.

Le complicazioni intraoperatorie più frequenti sono rappresentate dall'emorragia dei seni cavernosi, meno frequentemente del circolo cerebrale e dell'ipotalamo¹⁷.

Periodo postoperatorio

La gestione in terapia intensiva nel periodo post-operatorio è di fondamentale importanza per la buona riuscita dell'intervento.

Gli elettroliti, in particolare il sodio e il potassio e l'output urinario vanno monitorati attentamente anche dopo il risveglio dall'anestesia. Solitamente i cani sottoposti ad ipofisectomia hanno la tendenza ad essere poliurici ed a sviluppare ipernatremia. E' quindi fondamentale adeguare l'input dei fluidi all'output, mettere a disposizione dell'animale acqua da bere appena possibile e somministrare desmopressina^{17,20}. Quest'ultima viene infatti instillata sotto forma di gocce nel sacco congiuntivale al termine della chirurgia. In caso di marcata ipernatremia è necessario correggere le concentrazioni ematiche di sodio utilizzando fluidi poveri di sodio.

La glicemia nel periodo post-operatorio deve essere monitorata sia perché i fluidi somministrati sono supplementati con soluzione glucosata, sia poiché lo stato di ipercortisolismo cronico può aver determinato insulino-resistenza.

La temperatura può subire fluttuazioni anche considerevoli nel periodo post-operatorio e va monitorata e mantenuta entro l'intervallo di normalità. E' possibile che si verifichi ipertermia per un'alterata termoregolazione secondaria a danno ipotalamico. Solitamente lo stato infiammatorio o l'irritazione dei centri ipotalamici che regolano la temperatura corporea sono temporanei⁷.

La pressione arteriosa non invasiva viene monitorata per verificare ed evitare eccessivi sbalzi pressori; la pressione venosa centrale risulta particolarmente utile per individuare eventuali sovraccarichi di fluidi.

Le frequenze cardiaca e respiratoria devono rimanere nei range di normalità e possono indicare, insieme allo stato del sensorio del paziente, delle eventuali complicazioni, quali emorragie, aumento della pressione intracranica, o altre alterazioni a carico del sistema nervoso centrale.

Nel periodo post-operatorio è bene utilizzare protocolli terapeutici chiari e definiti. La terapia post-operatoria è riassunta nelle tabelle 2 e 3.

Tabella 2

TERAPIA IMMEDIATO PERIODO POST-OPERATORIO	
ANTIBIOTICO	
Ampicillina e sulbactam	20 mg/kg q8h per 15 giorni
ANALGESIA	
Metadone	0.1-0.2 mg/kg q4h per 1-2 giorni
Buprenorfina	15 µg/kg q6 h per 2 giorni
Tramadolo	2 mg/kg q8 h per 7 giorni
FLUIDOTERAPIA	Durante chirurgia 10 ml/kg/h
NaCl 0.45% + 2.5% glucosata + 20 mmol/l KCl	Poi velocità di infusione viene modificata in base all'output urinario
SUPPLEMENTAZIONE ORMONALE	
Idrocortisone	1 mg/kg q6h
Poi cortisone acetato	A scalare fino 0.25 mg/kg q12 h
Desmopressina	1 goccia (circa 5 µg) nel sacco congiuntivale q8h
Tiroxina	15 µg/kg q12 h
TERAPIA ANTICOAGULANTE	
Eparina calcica	150 UI/kg q8h

Tabella 3

TERPIA DI MANTENIMENTO

SUPPLEMENTAZIONE ORMONALE	
Cortisone acetato	1 mg/kg q12h, a scalare in 4 settimane 0.25-0.5 mg/kg q12h a vita.
Levotiroxina	15µg/kg q12h a vita.
Desmopressina	1 goccia (circa 5 µg) nel sacco congiuntivale q8h per 2-3 settimane, in alcuni soggetti a vita.
ANTIBIOTICO	
Amoxicillina e acido clavulanico	12.5 mg/kg q12h per 2 settimane
ANALGESIA	
Buprenorfina	15 µg/kg q6-8 h per 2-3 giorni
Tramadolo	2 mg/kg q8h per 5-7 giorni
FLUIDOTERAPIA	
Il tipo varia a seconda delle alterazioni elettrolitiche	La quantità di fluidi varia in base all'output urinario del paziente, del peso del paziente e a quanta acqua assume il paziente per via orale

La supplementazione ormonale con tiroxina e cortisone acetato deve essere continuata a vita. Il proprietario deve sapere che è assolutamente necessario che il cane riceva sempre la dose giornaliera di corticosteroidi; qualora non risulti possibile la somministrazione di corticosteroidi per via orale, la somministrazione deve essere eseguita per via sottocutanea o intravenosa. Il cortisone acetato viene inizialmente somministrato ad un dosaggio di 1 mg/kg BID per OS; la dose viene poi ridotta gradualmente nell'arco di 4 settimane ad un dosaggio di mantenimento di 0,25 mg/kg BID, che verrà continuato a vita. Al contrario, la somministrazione di tiroxina può essere sospesa per brevi periodi senza problemi. E' importante, per la qualità della vita del soggetto, misurare il T4 per modulare l'integrazione con tiroxina. Quest'ultima infatti viene somministrata inizialmente con un dosaggio minimo di 15 µg/kg BID, la quale successivamente può risultare non sufficiente ^{14,17}.

La desmopressina deve essere somministrata per almeno due settimane dopo la chirurgia per sopperire al deficit, spesso temporaneo, di vasopressina indotto con l'asportazione della neuroipofisi. Dopo 15 giorni buona parte dei soggetti (circa il 57% dei casi) non necessita più di supplementazione:

è probabile infatti che si crei un circolo collaterale che permette ai nuclei ipotalamici di immettere direttamente in circolo ADH²⁰. In taluni soggetti la desmopressina per via oculo-congiuntivale non ha una buona efficacia; in questi casi devono essere utilizzate altre vie di somministrazione quali la via sottocutanea e la via orale.

Le complicazioni riportate nel periodo post-operatorio sono rappresentate da possibili danni neurologici conseguenti a emorragie, ematomi o necrosi del tessuto nervoso. Tali complicazioni sono, per lo più, reversibili. Inoltre si possono verificare ipernatremia, iponatremia (meno frequentemente) ipertermia, cheratocongiuntivite secca, esoftalmo, edema sublinguale, polmonite ab ingestis, chetoacidosi, insufficienza renale acuta, edema cerebrale e morte di natura non accertata^{5,17,21}. Risvegli lenti e sonnolenza nel periodo post-operatorio sono stati descritti in caso di macroadenomi, con incapacità ad alimentarsi e a deambulare⁵. Alterazioni della capacità visiva e deficit dei riflessi pupillari sono solitamente transitori e si risolvono nel giro di qualche giorno⁵.

La cheratocongiuntivite secca è riportata piuttosto frequentemente nel periodo post-operatorio. La causa sembra essere una neuroprassia diretta (traumatica) o indiretta (ischemica) ai nervi petrosi maggiori. Altra causa potrebbe essere la posizione a bocca aperta durante la chirurgia, che potrebbe determinare un danno da compressione da parte del processo coronoideo mandibolare sul ganglio pterigopalatino. Si è visto che riducendo il grado di apertura del cavo orale in chirurgia, l'incidenza di cheratocongiuntivite secca sembra essere inferiore²⁰.

Esoftalmo è stato riscontrato con una bassa frequenza nel periodo post-operatorio, in un caso questa condizione si è associata ad un distacco retinico, e in un altro caso a miosite cronica dei muscoli masticatori. L'esoftalmo si risolve in una-due settimane dalla chirurgia, mentre le altre condizioni negli specifici casi sono regredite nel giro di qualche mese¹⁷.

Edema sublinguale è stato riportato in un caso¹⁷. Tutte queste ultime complicazioni sono state attribuite alla posizione a bocca aperta a cui il cane viene forzato durante la chirurgia. Quindi al fine

di evitare queste condizioni, è consigliabile rilasciare la mandibola ogni 30 minuti durante la chirurgia e/o aprire meno la bocca.

Secondo l'esperienza di chi scrive, episodi di trombosi possono costituire un'importante complicazione nel periodo post-operatorio di questi pazienti. In particolare questa complicazione è stata osservata nel periodo post-operatorio in cani di grandi dimensioni, con tendenza al decubito. Questa condizione potrebbe essere stata favorita dagli elevati dosaggi di corticosteroidi somministrati. Al fine di prevenire queste complicazioni si è introdotto una terapia anticoagulante profilattica con eparina calcica 150 UI/kg ogni 8 ore. Al momento, al meglio della nostra conoscenza, non sono disponibili studi in questi pazienti.

Il tasso di mortalità intraoperatoria e perioperatoria riportata in letteratura varia da 8 a 19%^{4,5}. Per i soggetti che superano il periodo post-operatorio la sopravvivenza riportata a 1, 2, 3, 4 anni è rispettivamente del 86%, 83%, 80% e 79%. Secondo Hanson e coll.⁴, il periodo libero da malattia invece a lungo termine è del 90% a 1 anno, del 77% a due anni, del 72% a 3 anni e del 68% a 4 anni. Nello studio condotto da Mamelak e coll.⁵ il follow up risulta più breve, ma la remissione nei pazienti sopravvissuti al periodo post-operatorio è del 100% a 3 mesi e del 95% a 1 anno.

Fattori prognostici

Per monitorare eventuali recidive si misura il rapporto tra cortisolo e creatinina urinario (UCCR) 6-10 settimane dopo la chirurgia⁴. Considerata la supplementazione di corticosteroidi nei pazienti dopo ipofisectomia, i prelievi per misurare UCCR vengono eseguiti dopo una sospensione di almeno 12 ore di idrocortisone o cortisone acetato. Dopo la chirurgia i valori di UCCR si riducono drasticamente, ma valori di UCCR nel range inferiore di normalità ($< 5 \times 10^{-6}$) sembrano garantire una prognosi migliore in termini di recidive, rispetto a valori di UCCR nel range superiore di normalità ($5-10 \times 10^{-6}$). Valori non rilevabili di UCCR non garantiscono tuttavia una remissione duratura dell'ipercortisolismo.

Anche alte concentrazioni plasmatiche di pro-opiomelanocortina sono state correlate ad una maggior frequenza di recidiva sia nel cane sia nell'uomo. La motivazione sembra essere dovuta alla maggiore aggressività del tumore e all'origine della neoplasia dalla *pars intermedia* dell'ipofisi. Allo stesso modo anche elevate concentrazioni preoperatorie di cortisolo escreto a livello urinario (UCCR) sono state correlate ad una maggior percentuale di recidive nel cane e nell'uomo.

L'età avanzata dei soggetti, le grandi dimensioni della neoplasia ipofisaria nonché le elevate concentrazioni di ACTH plasmatico, misurate prima della chirurgia, sono state correlate ad un maggior rischio di morte e ad un minor tempo di sopravvivenza nel periodo post-operatorio⁴.

Altro fattore prognostico per quanto riguarda le recidive è lo spessore dell'osso sfenoide, in quanto maggiore è lo spessore, più difficile è la visualizzazione diretta del campo operatorio da parte del chirurgo⁴. Di conseguenza aumenta la possibilità di lasciare piccoli gruppi di cellule o frammenti del tumore in situ.

Discussione

L'ipofisectomia risulta curativa qualora il chirurgo riesca ad asportare completamente la neoplasia. Questa condizione si verifica solitamente in caso di microadenomi ed in caso di macroadenomi non eccessivamente grandi. La chirurgia ha invece la funzione di ridurre le dimensioni del tumore quando questo è particolarmente grande anche se, a volte, risulta impossibile asportarlo completamente. In questi casi il fine è quello di ridurre velocemente l'effetto compressivo della massa e, qualora sia possibile, ottenere anche la remissione dello stato di ipercortisolismo. In caso di neoplasie di notevoli dimensioni è possibile osservare la persistenza dell'ipercortisolismo e rapide recidive. Infatti le notevoli dimensioni delle neoplasie ipofisarie sono state individuate come fattori prognostici negativi per quanto riguarda le recidive dell'ipercortisolismo⁴. Come già in parte ribadito, lo scopo della

chirurgia in questi casi è ridurre l'effetto massa esercitato dal tumore e dare al paziente un'aspettativa di vita maggiore, così come una migliore qualità di vita.

Recentemente, grazie all'utilizzo del trilostano, la tendenza è quella di sottoporre ad ipofisectomia solo i cani affetti da macroadenomi, o cani in cui la terapia medica non sia completamente efficace.

In particolare in caso di macroadenomi che determinano una sintomatologia neurologica le uniche opzioni terapeutiche sono la chirurgia o la radioterapia. Una buona opzione potrebbe essere l'esecuzione dell'ipofisectomia, associata a protocolli radioterapici che mirino a ridurre, a ritardare o a prevenire le recidive. Al momento non sono presenti studi sulla combinazione di queste due strategie terapeutiche.

La radioterapia di per sé è una valida alternativa alla chirurgia, tuttavia presenta possibili effetti collaterali quali necrosi dei tessuti e lo sviluppo di altre neoplasie²²; inoltre pochi centri ne dispongono ed è piuttosto costosa. Per ottenere una diminuzione delle dimensioni della neoplasia sono necessari periodi prolungati di trattamento e spesso lo stato di ipercortisolismo permane. E' quindi necessario associare una terapia medica, quale ad esempio il trilostano, per regolare la produzione di cortisolo.

Sulla scia della medicina umana^{1,2}, sono stati fatti dei tentativi di eseguire anche nel cane l'intervento d'ipofisectomia per via endoscopica, tuttavia vista la diversità anatomica tra uomo e cane, l'approccio endoscopico non sembra, al momento, apportare migliorie durante l'intervento. L'approccio endoscopico può invece risultare utile alla fine della chirurgia per verificare la completa asportazione della massa, visualizzando direttamente la fossa ipofisaria vuota. E' così possibile visualizzare piccole porzioni di tessuto neoplastico rimaste in situ e migliorare quindi la prognosi in termini di recidive.

Recentemente è stata proposta una tecnica video-assistita con buoni risultati⁵; la mortalità nei primi cani sottoposti ad intervento chirurgico, 10/26 cani è risultata elevata (50%), mentre negli ultimi 16

pazienti la mortalità si è ridotta allo 0%. Questo andamento dimostra sia la necessità di una curva di apprendimento da parte del chirurgo e sia nella gestione del periodo perioperatorio¹⁷.

Van der Vlugt-Meijer e coll.¹⁶ hanno condotto studi sulla possibilità di asportare solamente il tessuto neoplastico e non la totalità dell'ipofisi. Ad oggi ciò non appare possibile, soprattutto in caso di macroadenomi.

L'ipofisectomia è un intervento chirurgico che sta diventando sempre più disponibile, tuttavia necessita di un lavoro di equipe che prevede una stretta collaborazione tra endocrinologo, chirurgo, anestesista, medico della terapia intensiva e neurologo.

BIBLIOGRAFIA

1. Biller BMK, Grossman AB, Stewart PM *et al.* Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: A consensus statement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93:2454-2462, 2008.
2. Juszczak A, Grossman A. The management of Cushing's disease-from investigation to treatment. *Endokrynology Polska* 64: 166-174, 2013.
3. Meij, B.P. Pituitary surgery in dogs and cats: where do we stand today? In: *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association Congress, Birmingham, United Kingdom, April 2012*, p. 303-305.
4. Hanson JM, Teske E, Voorhout G *et al.* Prognostic factors for outcome after transphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Neurosurgery* 107: 830-840, 2007.

5. Mamelak AN, Owen TJ, Bruyette D. Transsphenoidal surgery using a high definition video telescope for pituitary adenomas in dogs with pituitary dependent hypercortisolism: methods and results. *Veterinary Surgery* 43: 369-379, 2014.
6. Hara Y, Teshima T, Taoda T *et al.* Efficacy of transsphenoidal surgery on endocrinological status and serum chemistry parameters in dogs with Cushing's disease. *Journal of Veterinary Medical Sciences* 72: 397-404, 2010.
7. Pisoni L, Del Magno S, Lotti D *et al.* Ipofisectomia transfenoidale in un cane con ipercortisolismo e sintomi neurologici secondari a macroadenoma ipofisario. *VETERINARIA* 6: 25-35, 2012.
8. Meij BP, Kooistra HS, Rijnberk A: Hypothalamus-pituitary system. In RijnberkA, Kooistra HS (Eds) *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats. An Illustrated Text.* Schlutersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover, pp 13-54, 2010.
9. Meij BP, Lopes MB, Ellegala DB *et al.* The long-term significance of microscopic dural invasion in 345 patients with pituitary adenomas treated with transsphenoidal surgery. *Journal of Neurosurgery* 96: 195-208, 2002.
10. Pollard RE, Reilly CM, Uerling MR *et al.* Cross-sectional imaging characteristic of pituitary adenomas, invasive adenomas and adenocarcinomas in dogs: 33 cases (1988-2006). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24: 160-165, 2010.
11. Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA *et al.* Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Endocrinology* 152: 387-394, 1997.
12. Kooistra HS, Galac S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* 27: 21-24, 2012.

13. Auriemma E, Barthez PY, Vlugt-Meijer RH, *et al.* Computed tomography and low-field magnetic resonance imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 11 cases (2001-2003). *Journal of American Veterinary Medical Association* 235: 409-414, 2009.
14. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM *et al.* Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. *Veterinary Surgery* 26: 295-309, 1997.
15. Ciric I, Zhao JC, Du H *et al.* Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: experience with 136 patients. *Neurosurgery* 70: 70-80, 2012.
16. Van der Vlugt-Meijer RH, Meij BP, van den Ingh TSGAM *et al.* Dynamic computed tomography of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17: 773-780, 2003.
17. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM *et al.* Results of transphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Veterinary Surgery* 27: 246-261, 1998.
18. Harvey RC, Greene SA, Thomas WB: Neurological disease. In Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA (Eds) *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia, IV Edition*. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA, pp 903- 913, 2007.
19. Axlund TM, Behrend EN, Sorjonen DC, *et al.* Canine hypophysectomy using a ventral paramedian approach. *Veterinary Surgery* 34: 179-189, 2005.
20. Hanson JM, van't Hoofd MM, Voorhout G *et al.* Efficacy of transphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19: 687-694, 2005.
21. Meij BP, Voorhout G, Rijnberk AD. Progress in transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Molecular and Cellular Endocrinology* 197: 89-96, 2002.

22. Kent MS, Bommarito D, Feldman E *et al.* Survival, neurologic response and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21: 1027-1033, 2007.

3. SINGLE AND MULTIPLE SLICE DYNAMIC COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE PITUITARY GLAND IN DOGS WITH PITUITARY-DEPENDENT HYPERCORTISOLISM.

Original investigation

Dynamic CT of the canine pituitary gland.

Sara Del Magno, Guy C.M. Grinwis, George Voorhout, Björn P. Meij.

From the Department of Veterinary Medical Sciences, School of Agriculture and Veterinary Medicine, University of Bologna, via Tolara di Sopra, 50, 40064, Ozzano dell'Emilia, Italy (Del Magno), Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Yalelaan 1, 3584 CL Utrecht, The Netherlands (Grinwis), Division of Diagnostic Imaging, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Yalelaan 108, 3584 CM Utrecht, The Netherlands (Voorhout), Department of Clinical Sciences of Companion Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Yalelaan, 108, 3584 CM Utrecht, The Netherlands (Meij).

Questo lavoro è stato svolto durante il periodo all'estero svolto presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Utrecht. Inviato a *Veterinary Radiology and Ultrasound*.

Key words: dog, dynamic computed tomography, hypercortisolism, hypophysectomy, pituitary.

Abstract

The objective of this study was to assess the added value of multiple slice dynamic scanning versus single slice dynamic scanning during computed tomography (CT) of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. Dynamic pituitary CT scanning was aimed at the detection of the pituitary flush and, therefore, indirectly, at the presence and position of the adenoma. Furthermore the objective was to assess the accuracy of identifying neoplastic pituitary tissue during surgery as treatment for pituitary-dependent hypercortisolism in relation to the CT and histopathological findings in a cohort of dogs that underwent single and multiple slice dynamic scanning.

Computed tomography with single and multiple slice dynamic series was performed in 86 dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. Thirty dogs underwent transsphenoidal hypophysectomy and pituitary specimens were collected as tumor, normal, mixed and neurohypophyseal samples and processed for histology and immunohistochemistry.

Multiple slice dynamic scanning detected the pituitary flush more frequently than single slice dynamic scanning and was more successful in identification of the presence and position of the pituitary adenoma. However, during surgery it proved to be difficult to predict the precise nature of the pituitary tissue that was removed during hypophysectomy, especially when it comes to distinguishing normal from adenomatous adeno-hypophyseal tissue.

In conclusion, multiple slice dynamic scanning is preferred over single slice dynamic scanning during CT for identification and localization of the neurohypophyseal flush, and, indirectly, the adenoma. The aim of pituitary surgery in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism remains total adeno-hypophysectomy to reduce the risk of residual disease or future recurrence.

Introduction

Hypocortisolism is a common endocrinopathy in dogs and is caused by a pituitary corticotroph adenoma in 80% of the cases.¹ The diagnosis of pituitary-dependent hypocortisolism is based primarily on clinical signs, biochemistry and endocrinological tests,² but pituitary imaging using computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) is important to determine the pituitary dimensions and to confirm the presence of an adenoma.^{2,3,4} Pituitary imaging using contrast-enhanced CT is also a prerequisite for hypophysectomy since it enables the determination of the bony surgical landmarks in relation to the pituitary gland.^{3,5} Pituitary imaging with CT allows the distinction between enlarged and non-enlarged pituitary glands.⁶ In dogs with pituitary-dependent hypocortisolism and non-enlarged pituitary glands, an isolated microadenoma was rarely directly visible on contrast-enhanced conventional CT.⁷ In healthy dogs, dynamic contrast-enhanced CT allows the visualization of the neurohypophysis due to its early arterial enhancement, called the neurohypophyseal “flush”.⁸ In dogs with pituitary-dependent hypocortisolism, the pituitary flush may be absent, displaced, or distorted, and this is considered indirect proof of a pituitary adenoma affecting the neurohypophyseal integrity.⁷ Dynamic CT scanning of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hypocortisolism with a conventional scanner in one slice, called single slice dynamic scanning (SSDS), may indirectly reveal the adenoma when the flush is contained in the slice. However, when the flush is outside the field of the single slice that is scanned, the position of the adenoma cannot be determined. In multiple slice dynamic scanning (MSDS), performed with a helical CT scanner, the complete pituitary gland is scanned during and after maximum contrast enhancement. Thus, it is hypothesized that the pituitary flush, and indirectly, the adenoma, will be detected more frequently using multiple slice dynamic CT series than with single slice dynamic series.

Hypophysectomy is an effective-long term treatment for pituitary-dependent hypocortisolism in dogs^{9,10} and the aim has been complete removal of the pituitary gland because of the low correlation between the dynamic CT findings on single slice dynamic CT series and the surgical and/or histological findings.⁷ However, in humans selective adenomectomy is the first choice in Cushing’s

disease and removal of the microadenoma leaves the normal pituitary gland unaffected.^{11,12} The question arises therefore whether selective removal of part of the pituitary gland based on results of multiple slice dynamic CT scanning¹³ is also an option in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. We hypothesized that the additional information obtained by multiple slice dynamic scanning in comparison with single slice dynamic scanning could guide the surgeon to a better distinction between normal and neoplastic tissue and therefore would allow for future selective adenectomy in dogs with Cushing's disease.

The aim of the present study was two-fold: 1) to assess the added value of multiple slice dynamic CT to single slice dynamic CT in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism, and 2) to assess the accuracy of the surgical findings in relation to the CT and histopathological findings in a cohort of dogs with pituitary-dependent hypercortisolism that underwent single slice dynamic scanning, multiple slice dynamic scanning and hypophysectomy.

Materials and methods

Animals

Eighty-six dogs with a diagnosis of pituitary-dependent hypercortisolism underwent dynamic CT scanning. Forty dogs were female (33 spayed), and 46 were male (18 castrated). The median age of the dogs was nine years, (ranging from two to 14 years) and the median body weight (BW) was 18.1 kg (ranging from 3.7 to 56.5 kg). The dogs included 35 different breeds and the most common breeds were Maltese (nine dogs), Dachshund (six dogs), Beagle (six dogs), Cavalier King Charles Spaniel (five dogs), and Jack Russell Terrier (four dogs). There were 31 other breeds (44 dogs) and 12 mixed breed dogs.

Diagnosis

Preliminary diagnosis of hypercortisolism was based on the history, clinical signs (such as polyuria, polydipsia, truncal obesity, thin hair coat, muscular weakness), and results of hematology and clinical

biochemistry. In the high dose dexamethasone suppression test, urinary corticoid/creatinine ratios were measured in two consecutive morning urine samples collected at home.^{14,15,16} The median urinary corticoid/creatinine ratios in 81 dogs was 106×10^{-6} (range 9 to 900×10^{-6} ; reference range $< 8.3 \times 10^{-6}$), which confirmed hypercortisolism. Immediately after collection of the second urine sample, the dogs received three oral doses of 0.1 mg dexamethasone per kg body weight every eight hours and the next morning a third urine sample was collected.¹⁷ In 59 dogs, the urinary corticoid/creatinine ratio in the third sample was less than 50% of the mean of the first two samples and pituitary-dependent hypercortisolism was diagnosed. In 22 dogs the suppression to dexamethasone was less than 50%, and dexamethasone-resistant pituitary-dependent hypercortisolism was diagnosed by measurement of elevated plasma concentrations of adrenocorticotropin (ACTH).^{1,18} In four dogs urinary corticoid/creatinine ratios were not available and in one dog with clear clinical signs consistent with Cushing's syndrome the urinary corticoid/creatinine ratios were in the upper range of normal but showed no suppression after administration of dexamethasone. In these five dogs, Cushing's disease was confirmed in the same manner as for the dogs with dexamethasone-resistant pituitary-dependent hypercortisolism.

Computed tomography

CT was performed in all 86 dogs. Following intravenous (IV) premedication with 10-20 μg dexmedetomidine/kg BW (Dexdomitor, Orion Corporation, Espoo, Finland) and 0.1 mg butorphanol/kg BW (Dolorex, Intervet Nederland BV, Boxmeer, The Netherlands), anesthesia was induced by IV administration of 1-2 mg propofol/kg BW (Rapinovel, Mallinckrodt Veterinary, Mundelein, Illinois). The trachea was intubated and inhalation anesthesia was maintained in a semi-closed system with a mixture of isoflurane, air and oxygen. Intravenous fluids (Sterofundin ISO/Ringerfundin; Braun Melsungen AG, Germany) were administered at a rate of 10 ml/kg/h during the procedure.

CT of skull was performed with a single slice helical CT-scanner (Secura CT Scanner, Philips, Best, The Netherlands). With the dog in sternal recumbence, transverse scans of the skull base were made from the rostral clinoid processes to the dorsum sellae, using 0.45 s scanning time with 120 kV, 200 mA and 2-mm-thick consecutive slices. At a position just rostral to the dorsum sellae, a single slice dynamic scanning (SSDS) was performed consisting of 2-mm-thick scans using 0.45 s scanning time with 1 image/s, with 120 kV and 300 mA. The single slice dynamic series started 10 s following the start of the IV administration of 2 ml iobitridol (Xenetix 350, Guerbet Nederland BV, Gorinchem, The Netherlands, containing 350 mg iodine/ml)/kg BW with an angiographic injector (Medrad Mark V plus, Medrad Europe BV, The Netherlands), with 4 ml/s and a pressure limit of 300 psi, through a 20 or 18 gauge vasofix certo needle (Braun Melsingen AG, Melsungen, Germany), depending on the size of the dog. Single slice dynamic scanning was followed by a series of scans (2-mm-thick consecutive slices) from the rostral clinoid processes to the dorsum sellae, using 0.45 s scanning time with 120 kV, 200 mA. Finally, a multiple slice dynamic series was performed, scanning the whole pituitary gland 8 to 10 times with 13 contiguous slices (1-mm-thick) with 120 kV, 260 mA, a scanning time of 0.45 s, 1 rotation/s, and 11 s delay between the series, at 10 s following the start of the IV administration of contrast medium as for the single sliced dynamic scanning.

Measurements were made from the display monitor using a trackball-driven cursor and CT computer software (Philips, Best, The Netherlands) with all images displayed at the same window setting (window width 250, window level +80). Pituitary dimensions (height and width) were measured from the contrast-enhanced image of the spatial series that contained the largest cross-section of the pituitary gland. On the same image the edges of the brain were traced and the enclosed area was calculated by the computer. The pituitary height (mm)/brain area (mm²) x 100 (P/B) value was calculated. Pituitaries with pituitary/brain value > 0.31 were considered enlarged and those with pituitary/brain value ≤ 0.31 were considered not enlarged.⁶ The maximum length of the pituitary gland was measured on the midsagittal reconstruction image.

The contrast enhancement pattern of the pituitary gland was assessed visually on the images of the single slice dynamic scanning and the multiple slice dynamic scanning by two observers (SDM and GV). The enhancement pattern of the pituitary gland was assessed in the single and in the multiple slice dynamic series with special attention to the detection of the pituitary flush (early and strong enhancement of the neurohypophysis).⁸

Hypophysectomy

Thirty of 86 dogs underwent transsphenoidal hypophysectomy as described previously.^{3,5} During surgery the surgeon (BPM) recorded the position of normal and affected pituitary tissue and, whenever possible, the normal and affected tissue was collected in separate formalin vials. Normal adenohypophyseal tissue was recognized by its white color and more firm consistency. Adenomatous adenohypophyseal tissue was recognized by its abnormal color (grey, glassy-grey, brown, dark blue, green) and abnormal consistency (soft, mucous, fluid-like, necrotic). The neurohypophysis was recognized as a firm small (2 to 3 mm in diameter) round nodule attached to the dorsum sellae. The surgeon classified the samples as normal adenohypophyseal tissue, adenomatous adenohypophyseal tissue, mixed (normal and adenomatous adenohypophyseal tissue), and neurohypophyseal tissue.

Histology and immunohistochemistry

The surgical tissue samples were placed in 10% neutral buffered formalin for 48 hours. The specimens were dehydrated, embedded in paraffin and cut in sections of 5 μm , and stained with hematoxylin and eosin for histological examination. For immunohistochemistry, the sections were stained for ACTH, alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH) and growth hormone (GH), using the avidine-biotine technique with a monoclonal mouse antibody to synthetic ACTH₁₋₂₄¹⁹ (Department of Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, The Netherlands), polyclonal rabbit antibodies to synthetic α -MSH²⁰ (PU060-UP;

Biogenex Laboratories, Duiven, The Netherlands), and rabbit antibodies to porcine GH (source 4750-3959; Biogenesis, Serotec, Oxford Biomedical Research, Oxford, UK) as previously described.^{21,22}

Relationship between surgical findings and histological findings

The surgical and histological findings were compared and the accuracy of the surgeon’s assessment of the surgical pituitary tissue samples were assessed by comparing the surgical findings with the histological diagnosis of the separate samples.

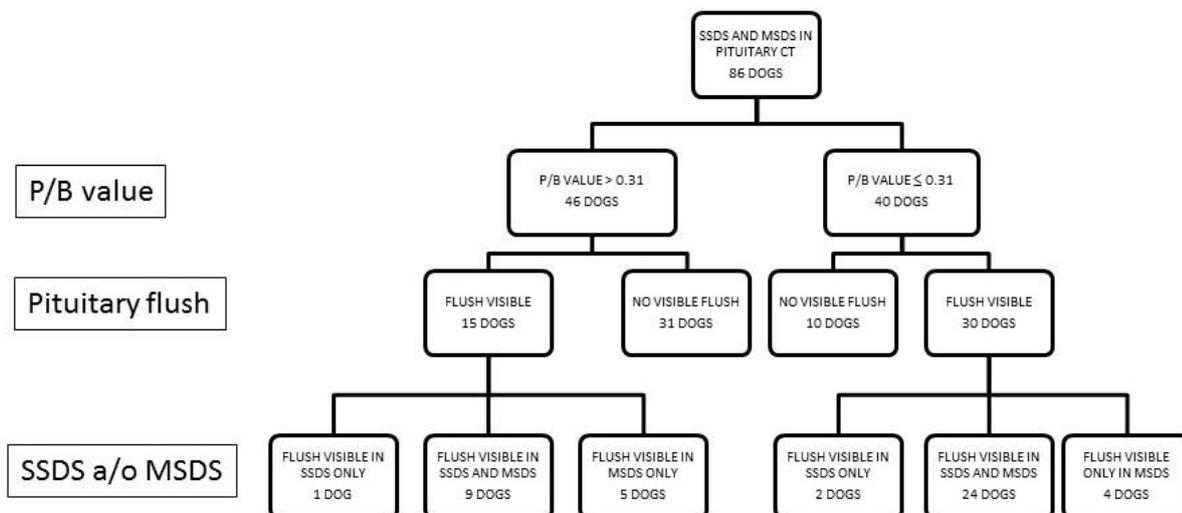
Results

CT findings

In 46 of 86 (53.5 %) dogs the pituitary gland was enlarged and the pituitary/brain values ranged from 0.32 to 1.16 (median 0.54); in the other 40 (46.5 %) dogs the pituitary gland was not enlarged and the pituitary/brain values ranged from 0.14 to 0.31 (median 0.24) (Fig. 1).

The pituitary flush was visible in both single and multiple slice dynamic series in 33 of 86 (38.4 %) dogs (Fig. 1).

Figure1



Organogram showing breakdown of 86 dogs with pituitary-dependent hypercortisolism that underwent computed tomography (CT) with single slice dynamic scanning (SSDS) and multiple slice dynamic scanning (MSDS). Dogs were subdivided according to the pituitary height/brain area (P/B) value, the presence or absence of the pituitary neurohypophyseal flush, and visualization of the flush on single and/or multiple slice dynamic scanning.

The position of the pituitary flush was similar during single and multiple slice dynamic series in 19 dogs, whereas in the other 14 dogs multiple slice dynamic series gave additional information on the position and extension of the flush compared to single slice dynamic series. For example, in 12 of 14 dogs the multiple slice dynamic series revealed rostrocaudal displacement of the flush or a change in its position when moving from rostral to caudal through the gland (Fig. 2).

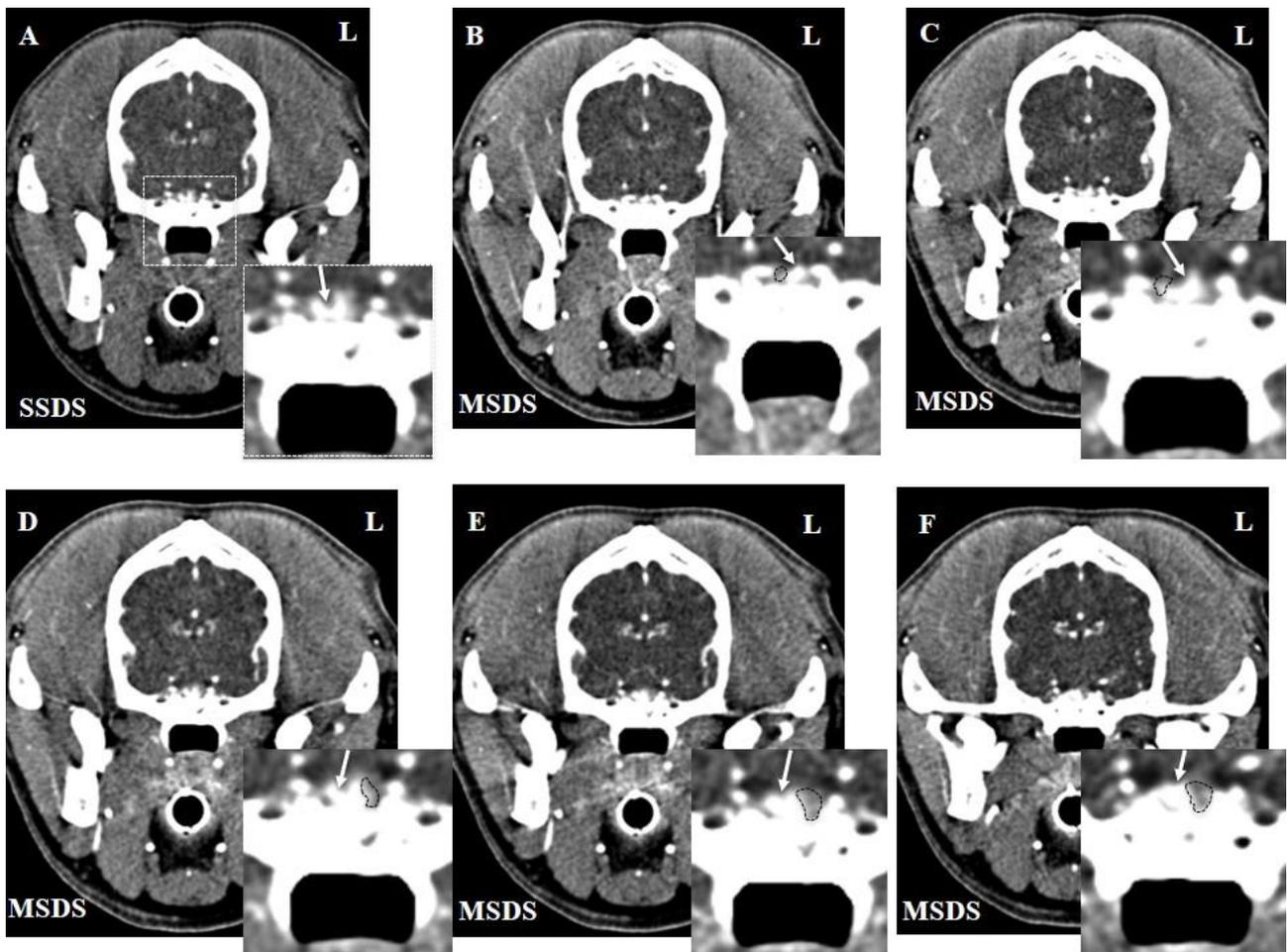


Figure 2

Transverse CT images during single slice dynamic scanning (SDSS) (A) and the third series of multiple slice dynamic scanning (MSDS) (B-F), at arterial enhancement of the pituitary fossa in a 9-year-old female Labrador retriever with pituitary-dependent hypercortisolism. The pituitary gland is not enlarged with a pituitary height / brain area (P/B) value

of 0.23.⁶ The pituitary flush (arrow) appears normal on the single slice dynamic serie (A) but representative images of the multiple slice dynamic series (B-F) reveal that the flush starts on the left side rostrally (B,C), is in the midline halfway the pituitary fossa(D) resembling the single slice dynamic scanning (A), and is displaced to the right side caudally (E,F). Inserts are magnified images with schematic outlining (dashed line) of the pituitary adenoma. Window width = 250, window level = 80.

In 30 of 40 (75%) dogs with non-enlarged pituitary glands, a pituitary flush was detected. In 24 of the 30 dogs the pituitary flush was evident in both single and multiple slice dynamic series (Fig. 2, 3) whereas in 2 dogs the flush was evident only in single slice dynamic series and in 4 dogs the flush was visible only in multiple slice dynamic series.

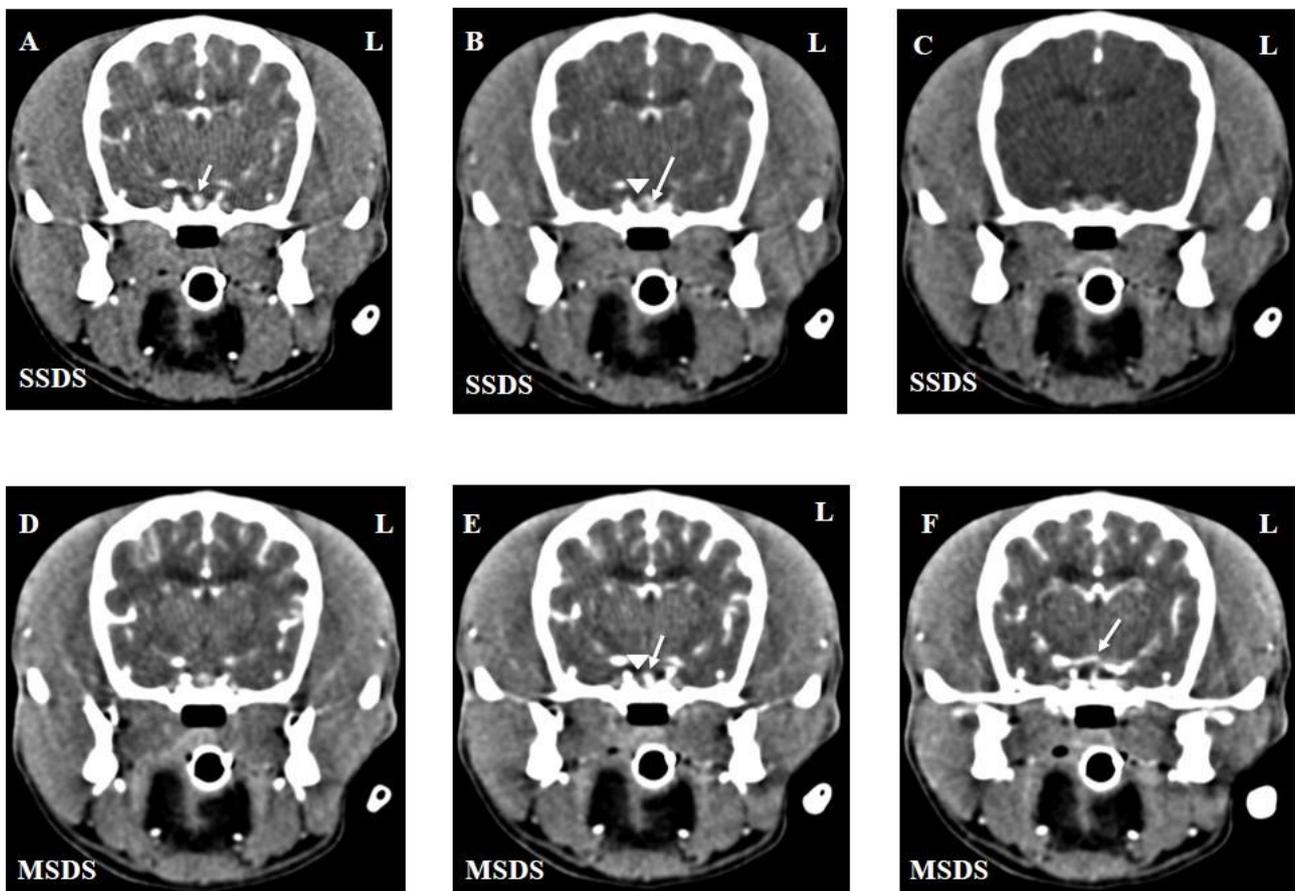


Figure 3

Transverse CT images during single slice dynamic scanning (SDSS) (A,B,C) and the first series of multiple slice dynamic scanning (MSDS) (D,E,F), at arterial enhancement of the pituitary fossa in an 8-year-old male castrated Maltese with pituitary-dependent hypercortisolism. The pituitary gland is not enlarged with a pituitary height / brain area (P/B) value

of 0.29.⁶ In single slice dynamic series the pituitary flush is clearly visible during early enhancement (A,B) and displaced to the left (arrow) indicating an adenoma on the right side (arrowhead). In multiple slice dynamic series the flush is only visible at slice position depicted in E which is comparable to the position at single slice dynamic series (A-C); however if single slice dynamic series would have been performed at slice position depicted in D (more rostral) or F (more caudal), the flush and (the adenoma) would have been missed. The slice position at F shows the arterial enhancement of the connection between basilar artery and arterial cerebral circle of Willis (arrow). Window width = 250, window level = 80.

In 7 of 40 (17.5%) dogs with non-enlarged pituitary glands, multiple slice dynamic series provided more information than single slice dynamic series on the enhancement pattern of the pituitary gland, marked by hypo- or hyperdense areas in the pituitary gland different from the flush.

In 15 of 46 (32.9%) dogs with enlarged pituitary glands, a pituitary flush was detected. In nine dogs the pituitary flush was evident in both single and multiple slice dynamic scanning, whereas in one dog the flush was visible only in single slice dynamic scanning and in five dogs the flush was detectable only in multiple slice dynamic scanning. In eight dogs a classical pituitary flush was not evident, instead an irregular hyperdensity of the pituitary gland was visible in multiple slice dynamic scanning during and after the arterial phase, usually at the moment when the pituitary flush should have been detected (Fig. 4).

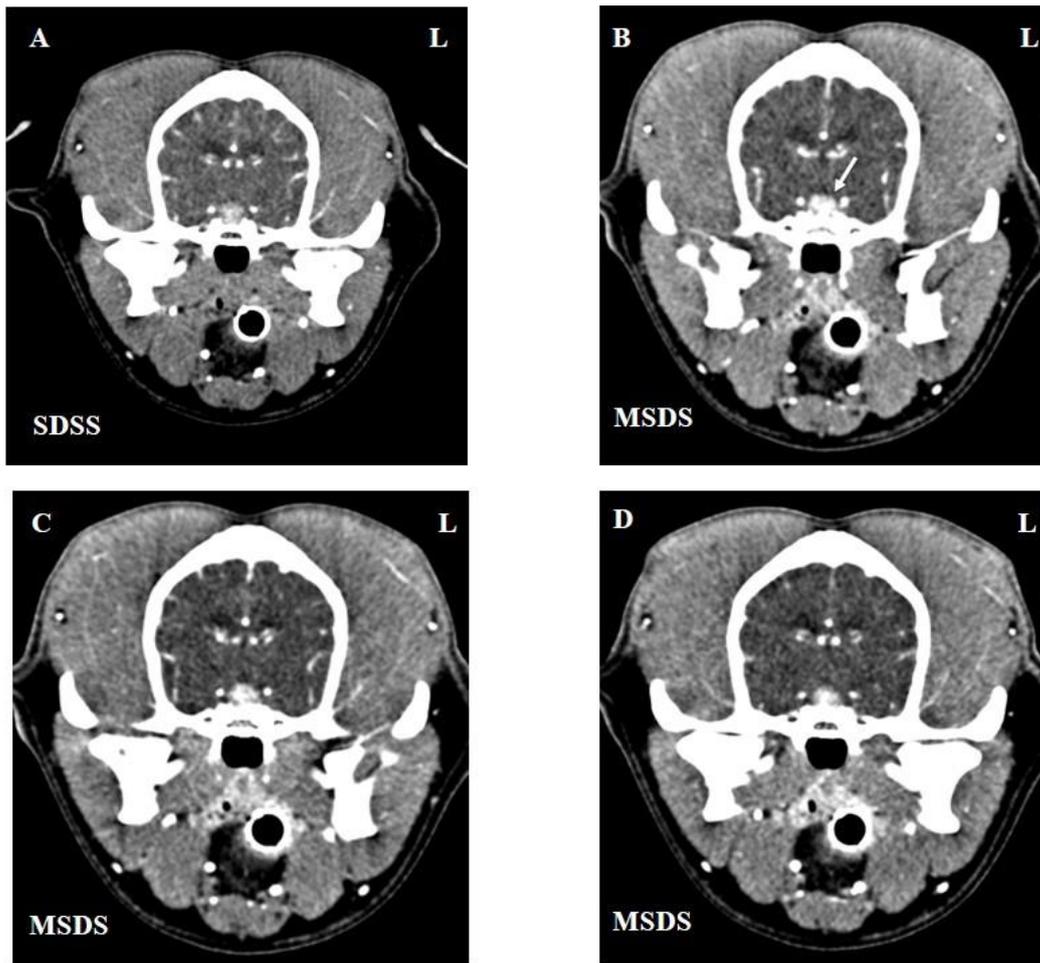


Figure 4

Transverse CT images during single slice dynamic scanning (SDSS) (A) and the second series of multiple slice dynamic scanning (MSDS) (B-D), at arterial enhancement of the pituitary fossa in a 5-year-old female castrated beagle dog with pituitary-dependent hypercortisolism. The pituitary gland is enlarged with a pituitary height / brain area (P/B) value of 0.46⁶ with irregular hyperdense enhancement pattern (arrow). The slice in single slice dynamic scanning (A) is at the same position as the slice (D) during multiple slice dynamic scanning. Window width = 250, window level = 80.

In 24 of 46 (52.2%) dogs with enlarged pituitary glands, multiple slice dynamic series provided more detailed information than single slice dynamic series on the enhancement pattern of the pituitary gland, marked by hypo- or hyperdense areas in the pituitary gland different from the flush.

Relation between surgical, imaging and histopathological findings

In the cohort of 30 dogs that underwent hypophysectomy the pituitary gland was not enlarged in four dogs (pituitary/brain value 0.23, 0.25, 0.27, 0.29) and enlarged in 26 dogs (median pituitary/brain

value 0.55; ranging from 0.32 to 0.99). The pituitary flush was visible in three of four dogs with non-enlarged pituitary glands and in seven of 26 dogs with enlarged pituitary glands.

There was agreement between the position of the adenoma, detected indirectly by the position of the pituitary flush on single and/or multiple slice dynamic series, and the position of the adenoma detected during surgery in two of 30 (6.6 %) dogs. However, in 20 of 30 dogs (66.7%) no pituitary flush was detected and the adenoma was identified by the surgeon in the central part of the pituitary gland. In the other eight dogs there was incomplete or no agreement between the surgical and imaging findings.

During hypophysectomy the surgeon collected pituitary tissue samples and identified them as adenomatous adenohypophyseal tissue (tumor sample, 28 dogs), mixed adenomatous adenohypophyseal and unaffected adenohypophyseal tissue (mixed sample, five dogs), and neurohypophyseal tissue (neurohypophysis sample, six dogs). There was complete correspondence between the surgeon's view and the histological diagnosis in 16 of 30 (53.3%) dogs. The 28 tumor samples collected by the surgeon indeed contained adenoma on histology. However, in two of these 28 tumor samples histology also revealed adenoma infiltrating in neurohypophyseal tissue. In four of the 28 tumor samples histology showed neurohypophyseal tissue, normal adenohypophyseal tissue, and adenomatous adenohypophyseal tissue. In 12 of the 28 tumor samples histology showed that normal adenohypophyseal tissue and adenomatous adenohypophyseal tissue were mixed. In all the five samples, where the surgeon indicated that normal adenohypophyseal tissue was collected together with adenomatous adenohypophyseal tissue (the mixed sample), histology confirmed the presence of both tissue types. Neurohypophyseal tissue was confirmed by histology in all the six samples classified by the surgeon as neurohypophysis. In one of these six neurohypophyseal samples histology also showed normal adenohypophyseal tissue and in another case, where the surgeon thought the neurohypophysis also contained a microadenoma, a cystic lesion was found on histology. The pars intermedia was not recognized by the surgeon as a separate entity but in 4 of 30 dogs histology showed that the adenoma originated from the pars intermedia. In three of these four dogs

no flush was detected on single and multiple slice dynamic scanning, while in two of these four dogs multiple slice dynamic scanning showed hyperdense areas during the arterial phase.

In all the 30 surgical samples a pituitary adenoma was diagnosed. In 23 dogs, the adenomatous adeno-hypophyseal tissue that was found on histology, showed strong (20 dogs) or weak immunoreactivity (three dogs) for ACTH and α -MSH. In seven dogs, adenomatous adeno-hypophyseal tissue found on histology was immunonegative for ACTH and α -MSH.

Discussion

The present study showed that multiple slice dynamic CT more frequently detected the pituitary flush than single slice dynamic CT in a cohort of dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. Indirectly, multiple slice dynamic scanning may therefore be more successful than single slice dynamic scanning in identification of the pituitary adenoma. However, multiple slice dynamic scanning did not improve the surgical distinction between normal and neoplastic pituitary tissue during hypophysectomy.

In humans, pituitary surgery for Cushing's disease consists of selective adenomectomy, that removes the (micro)adenoma and leaves the normal pituitary tissue unaffected enabling the pituitary to regain its normal function in due time.^{11,12} This is an option in humans primarily because the corticotroph adenoma presents itself as a well delineated microadenoma on pituitary imaging with MRI²³ which enables the pituitary surgeon to selectively remove the adenoma.

Only few veterinary clinics offer pituitary surgery as a therapeutic option, although it has been shown to be an effective long-term treatment for canine Cushing's disease.¹⁰

Complete hypophysectomy increases the risk for post-operative hormone deficiencies, e.g. diabetes insipidus due to lack of vasopressin.²⁴ The present study was undertaken to investigate whether selective adenomectomy is an option in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism, thereby reducing the need for lifelong hormone supplementation. Adenomectomy spares the normal adeno-hypophyseal tissue and the neurohypophysis. To reach this aim, accurate tumor localization is

necessary by pituitary imaging. Especially with the current trend in veterinary medicine to faster helical CT scanners with multiple slice modalities and high field MRI scanners, dynamic pituitary imaging will provide even more detailed information on the three dimensional characteristics of the pituitary flush or the adenoma itself in case of MRI and this may give the surgeon more stronghold to go for selective removal of pituitary adenoma tissue.

During surgery the pituitary adenoma may then be identified for selective resection. However, in a previous study the surgeon's macroscopic distinction between the normal and neoplastic pituitary tissue, and the neurohypophysis was not found to be very accurate.⁷ In that particular study the position of the adenoma was deduced by the position of the pituitary flush in a single slice during dynamic series of CT scans.⁷ In the present study using a dynamic helical CT, the complete pituitary gland was repeatedly scanned every few seconds during contrast administration.

More pituitary flushes were visible with single slice dynamic series in non-enlarged pituitary glands than in enlarged pituitary glands which was previously reported.⁷ Most likely this is caused by the limited compression that a microadenoma exerts on the neurohypophysis and its arterial supply. In contrast, when the pituitary gland is enlarged the tumor may disturb the enhancement of the neurohypophysis.⁷

Pituitary flushes (9/86 dogs) were detected in the multiple slice dynamic scanning that were not seen in the single slice dynamic scanning. Our hypothesis that multiple slice dynamic scanning could define more precisely the position of the adenoma in the gland is supported by the results, because the cranial or caudal displacement of the flush was evident in several cases. In single slice dynamic scanning, however, the wrong slice may be chosen missing the pituitary flush.

In three dogs the flush was visible in single slice dynamic series but not in multiple slice dynamic series. This is probably caused by discrepancy between the time of scanning and the arrival of the contrast medium in the neurohypophysis. The pituitary flush is usually only visible for some seconds and more time is usually needed with a single slice CT scanner to examine the complete gland in multiple slice dynamic scanning than to examine a single slice in single slice dynamic scanning. The

time of contrast injection is fixed in relation to the time of scanning, but the contrast distribution can vary due to the circulatory state of the dog and to the effect of anesthetic agents. As a consequence the enhancement of the neurohypophysis can reach its peak between the multiple slice dynamic scanning and may already have disappeared in the next series. Another possible explanation may be the difference in slice thickness between single slice dynamic scanning (2 mm) and multiple slice dynamic scanning (1 mm) which could lead to accumulation of contrast medium in SSDS resembling the flush.

Irregular hyperdense areas were seen in the arterial contrast phase (eight dogs), especially in multiple slice dynamic series. The possible reasons are an anomalous flush due to the compression of the tumor, accumulation of contrast medium because it is administered the first time for the single slice dynamic scanning and the second time for the multiple slice dynamic scanning, or a direct arterial supply to the adenoma. Two of the eight dogs underwent hypophysectomy and there were no apparent differences at histology compared to other dogs. In humans a rare arterial vascular supply has been reported in ACTH-secreting adenomas,²⁵ but, to our knowledge, no data are available in the veterinary literature. It was proposed that a direct arterial supply to the tumor reduces the control of the hypothalamus on the pituitary gland and on the adenoma, but in the eight dogs with hyperdense areas at multiple slice dynamic series no different behavior was seen with respect to the dexamethasone suppression.

Additional information, besides the pituitary flush, was recorded with multiple slice dynamic scanning on the enhancement of the pituitary glands. The hypo- or hyperdense areas may suggest the presence of a necrotic portion of the tumor, a cystic lesion, or a mineralized portion. None of these lesions were linked to better or worse prognosis, but they can give the surgeon a more accurate indication of the type of tissue that will be encountered during surgery.

No pituitary flush was detected during single and multiple slice dynamic series in 20 of 30 dogs that underwent hypophysectomy. In enlarged pituitary glands it is more likely that the adenoma had sufficient time to disrupt the neurohypophyseal integrity explaining the absence of the pituitary flush

on CT. On expansion of the tumor it may affect the complete pituitary gland, with the center of the tumor becoming necrotic over time. Indeed, the surgeon identified the tumor frequently in the central part of the gland. In the last decade, a trend was also noted in veterinary medicine that the surgical approach becomes more a treatment strategy in enlarged pituitary glands and not in non-enlarged pituitary glands, although it is reported to give better results in microadenoma.²⁴ Probably this trend is linked to the good control of the hypercortisolism by the medical therapy with trilostane²⁶ and the difficulty to visualize directly the microadenoma on CT. Since microadenomas tend not to grow fast and there is no compression on the brain tissue, this may seem a fair strategy. But, to our knowledge, no information is available on the growth rate of pituitary adenomas in the dog and no comparison has been made between the outcome of surgery and trilostane therapy. However, another mechanism needs to be considered in this discussion on treatment strategy. Since medical therapy with trilostane or mitotane will decrease the negative feedback of the cortisol excess to the pituitary gland, the microadenoma may actually be allowed to grow faster and possibly change behavior from benign to more malignant over the years. This phenomenon has been described in experimental dogs that were treated with mitotane²⁷ or trilostane.²⁸

A prerequisite for selective adenomectomy is the recognition of the tumor during surgery and in this study an experienced surgeon attempted to collect the normal adenohipofyseal tissue, the adenoma and the neurohipofysis, separately. When the surgeon identified neoplastic adenoma tissue sample macroscopically, frequently on histological examination also normal and/or neurohipofyseal tissues were included besides the adenomatous tissue. When the surgeon identified a mixed sample macroscopically, it indeed was normal and adenomatous tissue on histology. When the surgeon identified the neurohipofysis macroscopically, it was confirmed histologically and just in one case adenohipofyseal tissue was included in the sample. From this study it can be concluded that in the cases where the surgeon recognized the neurohipofysis (six of 30 dogs), leaving the neural lobe in place would have been an option to prevent the post-operative lack of ADH. No tumor was found in the neurohipofyseal samples, while in the previous study⁷ this was considered an important

limitation to selective adenohipophysectomy. This may reflect a continued learning effect and increasing experience on the part of the surgeon. It remains to be seen whether leaving the neurohypophysis during pituitary surgery in dogs would indeed reduce the frequency of diabetes insipidus since selective adenohipophysectomy may necessitate manipulation of the neurohypophysis during removal of the adenomatous adenohipophysis. This in itself may lead to hypo- or hypersecretion of vasopression with hypernatremia (diabetes insipidus) or hyponatremia (syndrome of inappropriate ADH secretion), respectively.

The immunoreactivity for ACTH and α -MSH was confirmed for 23 pituitary adenomas, but the absence of immunoreactivity for ACTH and α -MSH in seven cases seems to be in contrast with the clinical diagnosis of Cushing's disease. Apart from technical problems (e.g. duration of fixation, faults in the staining process), the corticotrophs of the adenoma may be so productive in secretion of excess hormones without storing sufficient amounts of ACTH and α -MSH to produce immunopositivity above the detection limit.

In conclusion, considering the scarce overlap between the findings on diagnostic imaging and during surgery with respect to the localization of the adenoma, and the lack of accuracy of the surgical distinction of the different portions of the pituitary tissue (normal versus adenoma), complete hypophysectomy is still the most safe and efficient way to achieve remission of Cushing's disease. Nevertheless, multiple slice dynamic series give a panoramic overview in place and time of the enhancement of the pituitary gland and of the pituitary flush and thereby indirectly of the position of the adenoma. Accordingly dynamic pituitary imaging should remain an essential part of the pituitary imaging protocol. Future studies are recommended for dynamic pituitary imaging using faster helical CT scanners with multiple slice modalities and high field MRI scanners.

References

1. Galac S, Reusch CE, Kooistra HS, Rijnberk A. Adrenals. In: Rijnberk A, Kooistra HS, editors. *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats- an illustrated text*. Hannover: Schlutersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co; 2010 p.93-154.
2. Kooistra HS, Galac S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. *Top Companion Anim Med* 2012; 27: 21-24.
3. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, Hazewinkel HAM, van't Verlaat JW. Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. *Vet Surg* 1997; 26: 295-309.
4. Auriemma E, Barthez PY, van der Vlugt-Meijer RH, Voorhout G, Meij BP. Computed tomography and low-field magnetic resonance imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 11 cases (2001-2003). *J Am Vet Med Assoc* 2009; 235: 409-414.
5. Meij BP, Voorhout G, Van den Ingh TSGAM, Hazewinkel HAW, Teske E, Rijnberk A. Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Surg* 1998; 27: 246-261.
6. Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, Rijnberk A. Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Endocrinol* 1997; 152: 387-394.
7. Vlugt-Meijer RH van der, Meij BP, van den Ingh TSGAM, Rijnberk A, Voorhout G. Dynamic computed tomography of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Int Med* 2003; 17: 773-780.
8. Vlugt-Meijer RH van der, Meij BP, Voorhout G. Dynamic computed tomographic evaluation of the pituitary gland in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2004; 65: 1518-1524.

9. Meij BP, Voorhout G, Rijnberk AD. Progress in transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 89-96.
10. Hanson JM, van't Hoofd MM, Voorhout G, Teske E, Kooistra HS, Meij BP. Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 87-694.
11. Biller BMK, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, et al. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: A consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2454-2462.
12. Juszcak A, Grossman A. The management of Cushing's disease-from investigation to treatment. *Endokrynol Pol* 2013; 64: 166-174.
13. Vlugt-Meijer RH van der, Meij BP, Voorhout G. Dynamic helical computed tomography of the pituitary gland in healthy dogs. *Vet Rad Ultrasound* 2007; 48: 118-124.
14. Stolp R, Rijnberk A, Meijer JC, Croughs RJM. Urinary corticoids in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Res Vet Sci* 1983; 34: 141-144.
15. Rijnberk A, Van Wees A, Mol JA. Assessment of two tests for the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 1988; 122: 178-180.
16. Smiley LE, Peterson ME. Evaluation of a urine cortisol:creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med* 1993; 7: 163-168.
17. Galac S, Kooistra HS, Teske E, Rijnberk A. Urinary corticoid:creatinine ratios in the differentiation between pituitary-dependent hypercortisolism and hypercortisolism due to adrenocortical tumor in the dog. *Vet Q* 1997; 19: 17-20.
18. Feldman EC. Distinguishing dogs with functioning adrenocortical tumors from dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc* 1983; 183: 195-200.
19. Middleton DJ, Rijnberk A, Bevers MM, Goos HJTh, Beeftink EA, Thijssen JHH, et al. Some functional aspects of canine corticotrophs. *Horm Metab Res* 1987; 19: 632-635.

20. Spencer GSG, Garssen GJ, Colebrander B, Macdonald AA, Bevers MM. Glucose, growth hormone, somatomedin, cortisol and ACTH changes in the plasma of unanaesthetized pig foetus following intravenous insulin administration in utero. *Acta Endocrinol* 1983; 104: 240-245.
21. Meij BP, van den Ingh TSGAM, Mol JA, Bevers MM, Rijnberk A. Immunohistochemical staining for adrenocorticotropin, melanotropin, growth hormone, prolactin, and thyreotropin in a median sagittal section of the pituitary gland in beagle dogs. Thesis, Utrecht University. Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs, Trepico, Hooglanderveen, The Netherlands, 1997 p.125-141.
22. Meij BP, van den Ingh TSGAM, Bevers MM, Hazewinkel HAW, Rijnberk A. Assessment of pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs. *Domest Anim Endocrinol* 1997; 14: 81-97.
23. Ciric I, Zhao JC, Du H, Findling JW, Molitch ME, Weiss RE, et al. Transsphenoidal surgery for Cushing disease: experience with 136 patients. *Neurosurgery* 2012; 70: 70-80.
24. Hanson JM, Teske E, Voorhout G, Galac S, Kooistra HS, Meij BP. Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Neurosurg* 2007; 107: 830-840.
25. Racadot J, Gremain J, Kujas M, Droute Y, Olivier L. Involvement of arterial vessels in the blood supply to adenomas of the human pituitary, functional implication. *Bull Assoc Anat* 1986; 70: 5-12.
26. Cho KD, Kang JH, Chang D, Na KJ, Yang MP 2013. Efficacy of low- and high-dose trilostane treatment in dogs (< 5 kg) with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2013; 27 :91-98.
27. Taoda T, Hara Y, Takekoshi S, Itoh J, Teramoto A, Osamura RY, et al. Effect of mitotane on pituitary corticotrophs in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2006; 67: 1385-1394.

28. Teshima T, Hara Y, Takekoshi S, Nezu Y, Harada Y, Yogo T, et al. Trilostane-induced inhibition of cortisol secretion results in reduced negative feedback at the hypothalamic-pituitary axis. *Dom Anim Endocrinol* 2009; 36: 32-44.

4.IPOFISECTOMIA TRANSSFENOIDALE IN UN CANE CON
IPERCORTISOLISMO E SINTOMI NEUROLOGICI SECONDARI A
MACROADENOMA IPOFISARIO

TRANSSPHENOIDAL HYPOPHYSECTOMY IN A DOG WITH HYPERCORTISOLISM AND
NEUROLOGIC SIGNS DUE TO A PITUITARY MACROADENOMA

Luciano Pisoni*, DVM, PhD, Sara Del Magno*, DVM, Donatella Lotti[°], DVM, PhD, Luciana
Mandrioli*, DVM, PhD, Laura Zagnoli*, DVM, Francesca Bresciani*, DVM, Sara Corradini*,
DVM, Elena Cloriti*, DVM, Monika Jöechler*, Prof, DVM, PhD, Filippo Cinti*, DVM, Federico
Fracassi*, DVM, PhD.

* *Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie - Alma Mater Studiorum - Università di Bologna.*

[°] *Centro di referenza in Neurologia, Neurodiagnostica e Neurochirurgia, Cambiano, Torino.*

Questo lavoro è stato pubblicato sulla rivista Veterinaria nel 2012 Anno 26 (6): 25-35.

Questo articolo riporta il primo caso d'ipofisectomia transfenoidale eseguito in Italia ed è il primo caso di reintervento in seguito ad una prima ipofisectomia nel cane, al meglio della conoscenza di chi scrive.

Parole chiave: ipofisectomia, sindrome di Cushing, iperadrenocorticismo, ghiandola pituitaria, cortisolo, chirurgia, istopatologia.

Key words: hypophysectomy, Cushing's syndrome, hyperadrenocorticism, pituitary gland, cortisol, surgery, histopathology.

RIASSUNTO

Un cane Galgo Spagnolo femmina di 8 anni affetto da sindrome di Cushing, trattato inizialmente con trilostano, è stato presentato per l'insorgenza di sintomi neurologici proencefalici. La risonanza magnetica ha permesso la visualizzazione di un macroadenoma ipofisario di notevoli dimensioni. Il soggetto è stato sottoposto ad un intervento di ipofisectomia transsfenoidale che ha permesso di controllare la sintomatologia neurologica. Il ripresentarsi dei segni clinici e la risonanza magnetica di controllo, eseguita a due mesi dall'intervento, hanno evidenziato la presenza di parte della neoplasia. Il cane è stato pertanto sottoposto ad un secondo intervento di ipofisectomia. Una successiva risonanza magnetica ha permesso di evidenziare l'asportazione in toto della massa con conseguente risoluzione della sintomatologia neurologica e della disendocrinia. Questo case report supporta il fatto che macroadenomi di notevoli dimensioni che determinano sintomatologia neurologica possano essere trattati chirurgicamente con successo. In caso di necessità, un secondo intervento chirurgico può risultare fattibile ed efficace.

SUMMARY

A 8-year-old, female Spanish Galgo dog with Cushing's syndrome, initially treated with trilostane, was referred for onset of proencephalic neurological signs. Magnetic resonance imaging (MRI)

showed a big pituitary macroadenoma. The dog was treated with transsphenoidal hypophysectomy that allowed a control of the clinical signs. The neurological abnormalities recurred and 2 months after surgery another MRI was performed. Part of the pituitary mass was still present. Transsphenoidal hypophysectomy was therefore repeated. After surgery the neurological and endocrinological signs resolved and another MRI revealed the complete removal of the pituitary mass. This case report supports that macroadenomas of considerable dimensions with subsequent neurological symptoms, can be successfully treated with surgery. If necessary, a second hypophysectomy can be feasible and effective.

INTRODUZIONE

La Sindrome di Cushing o ipercortisolismo è caratterizzata dagli aspetti clinici e laboratoristici conseguenti all'esposizione cronica e patologica ad eccessivi livelli ematici di glucocorticoidi¹.

Nell'80-85% dei casi l'ipercortisolismo spontaneo è il risultato dell'aumento di secrezione di ormone adrenocorticotropo (ACTH) ad opera di una neoplasia ipofisaria, pertanto si presenta nella forma ipofisi-dipendente (PDH, Pituitary Dependent Hypercortisolism), ne consegue un'iperstimolazione surrenalica con aumento della secrezione di glucocorticoidi. Nella maggior parte degli altri casi la patologia è invece ACTH-indipendente ed è solitamente dovuta a un'ipersecrezione da parte di una neoplasia cortico-surrenalica.

Le lesioni ipofisarie secernenti ACTH possono essere piccoli nidi di cellule corticotrope iperplastiche o neoplasie estese che originano dalla *pars distalis* (PD) o dalla *pars intermedia* (PI) dell'ipofisi¹.

Sulla base delle dimensioni, gli adenomi ipofisari vengono classificati come microadenomi o macroadenomi; questi ultimi caratterizzati da un aumento delle dimensioni dell'ipofisi. Nonostante in letteratura siano stati proposti dei valori di *cut-off* per differenziare i micro dai macro adenomi; questi non sono universalmente accettati e alcuni autori preferiscono parlare di ipofisi normale o aumentata di dimensioni^{2,3}. Kooistra⁴ ha proposto di suddividerli in micro e macroadenomi sulla base del rapporto fra l'altezza dell'ipofisi e l'area cerebrale (P/B ratio). Queste misurazioni vanno eseguite in una immagine di tomografia computerizzata (TC) o risonanza magnetica (RM) in sezione trasversale in cui l'ipofisi presenti la massima altezza. Nel caso in cui il P/B ratio risulti al di sotto o al di sopra di 0,31^{4,5} vengono definiti rispettivamente micro e macroadenomi. Circa il 10-20% dei soggetti affetti da PDH presenta macroadenomi di dimensioni tali da determinare segni neurologici, quali alterazione dello stato mentale, atassia, tetraparesi, compulsione, alterazioni del comportamento, nistagmo, cecità, crisi convulsive e coma⁶.

In presenza di un macroadenoma con sintomatologia neurologica, le sole opzioni terapeutiche utili ad eliminare l'effetto compressivo sul sistema nervoso centrale sono il trattamento chirurgico o la radioterapia. L'ipofisectomia transsfenoidale nel cane è una terapia efficace in caso di adenoma ipofisario; tuttavia richiede la disponibilità di un chirurgo esperto e di un centro specializzato. In tale tipo di chirurgia le complicazioni e la mortalità aumentano all'aumentare delle dimensioni della massa neoplastica³. Nel caso di neoplasie estremamente voluminose l'obiettivo della chirurgia è la riduzione dell'effetto massa, grazie alla rimozione di quanto più possibile tessuto tumorale; in tali casi il trattamento chirurgico non è solitamente risolutivo per lo stato di ipercortisolismo e può rendersi necessario l'abbinamento di una terapia medica.

Nel presente lavoro riportiamo il trattamento chirurgico e il follow-up di un cane con PDH e segni neurologici, dovuti ad un macroadenoma ipofisario di notevoli dimensioni.

DESCRIZIONE DEL CASO CLINICO

Un cane femmina di razza Galgo Spagnolo di 8 anni affetto da sindrome di Cushing è stato riferito presso il Centro di Referenza di Neurologia di Cambiano. Cinque mesi prima, sulla base della sintomatologia clinica, di un profilo emato-biochimico, di un'ecografia addominale e di un test di stimolazione con ACTH (cortisolo basale 6,0 µg/dl e post-stimolazione 44,5 µg/dl), era stata effettuata una diagnosi di PDH. Il soggetto era stato sottoposto a terapia con trilostano (Vetoryl®) (2 mg/kg BID OS) e monitorato attraverso controlli clinici e test di stimolazione con ACTH. Il cane aveva inizialmente risposto positivamente alla terapia e ad un controllo effettuato a 3 mesi dalla diagnosi indicava un efficace controllo della patologia (cortisolo basale 0,9 µg/dl e cortisolo post stimolazione con ACTH 3,3 µg/dl), tranne che per il permanere della poliuria e polidipsia, motivo per il quale era stata introdotta la somministrazione di desmopressina (una goccia nel sacco congiuntivale di un occhio BID) con lieve riduzione della sintomatologia.

Il soggetto è stato riferito poiché da circa un mese aveva iniziato a manifestare movimenti compulsivi, depressione del sensorio, ansietà prevalentemente notturna, episodi di disorientamento e calo del visus. Alla visita clinica si rilevava uno stato di nutrizione scadente, pelo opaco e rarefatto, con aree alopeciche che interessavano tronco e coda (Fig. 1).



Figura 1

Cane femmina di 6 anni, Galgo spagnolo affetto da Sindrome di Cushing. Stato di nutrizione scadente, atrofia muscolare, pelo opaco e rarefatto con aree alopeciche che interessavano tronco, arti e coda.

All'esame neurologico le alterazioni presenti consistevano in ritardo di risposta al gesto di minaccia e ritardo del riflesso pupillare diretto e consensuale bilaterale con pupille di dimensioni normali. All'auscultazione cardiaca si percepiva un soffio sistolico (III/VI grado) con massima intensità a sinistra in corrispondenza della punta del cuore.

Sulla base dei dati anamnestici, clinici e della visita neurologica è stato possibile localizzare la lesione a livello prosencefalico, presupponendo un interessamento specifico delle strutture del diencefalo ventrale adiacenti al chiasma ottico, in virtù del ritardato riflesso pupillare e della diminuzione della capacità visiva. Le principali diagnosi differenziali includevano un macroadenoma ipofisario, altre neoplasie intracraniche o, causa meno probabile, encefaliti.

Gli esami emato-biochimici non mettevano in evidenza alterazioni significative tranne linfopenia ($550/\text{mm}^3$ range $1000-4800/\text{mm}^3$), un lieve incremento dell'alanina-aminotransferasi (ALT) (78 U/L range 20-55 U/L) e della gamma glutamil-transferasi (GGT) (11.0 U/L range 0-5,8 U/L). Sono stati riscontrati ridotti livelli di tiroxina libera (fT₄) pari a 8,9 pmol/L (16,0-31,8 pmol/L) associati a normoconcentrazione di ormone tireostimolante (TSH) (0,16 ng/ml range 0,03-0,40 ng/ml). La Risonanza Magnetica (RM) del cranio è stata condotta con magnete Vet-RM Esaote 0,2 Tesla, con sequenze SE pesate in T1 (TR 550, TE 18) e T2 (TR 4080, TE 80), Flair (TR 400, TE 90), pesate in SET1 sagittali, TSE T2 trasverse, e completato dopo la somministrazione di contrasto paramagnetico (0,1 mmol/kg, Gadovist®, Bayer) nei tre piani dello spazio e con sequenze Flair nel piano dorsale.

L'esame ha messo in evidenza nella regione intra e soprasellare la presenza di una voluminosa lesione espansiva che si estende verso il talamo, prevalentemente di sinistra (fig. 2a, 2b), di forma irregolarmente ovalare, a margini regolari e di dimensioni approssimative di 16,33 mm in senso dorso-ventrale, 23 mm in quello latero-laterale e 21 mm in quello oro-aborale.

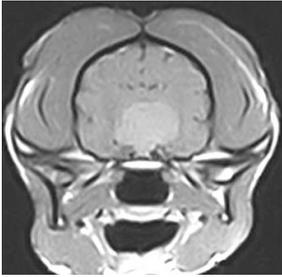


Figura
2a

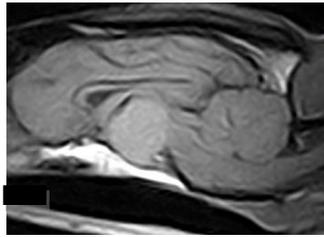


Figura 2b

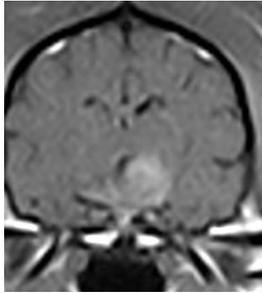


Figura 2c

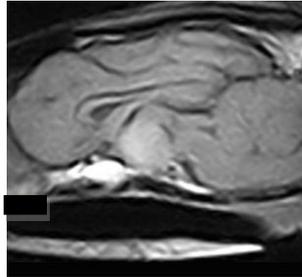


Figura 2d

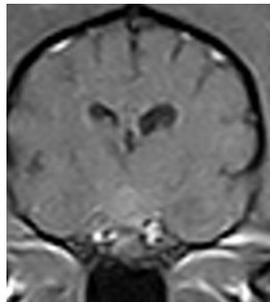


Figura 2e

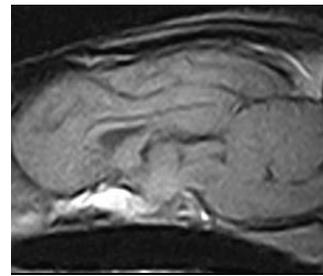


Figura 2f

Figura 2

Figura 2a: Primo esame RM, sezione trasversa SET1 effettuate con dose piena di contrasto: massa che si erge a palizzata verso il talamo, di forma ovalare, che ha assunto contrasto e di dimensioni in senso latero-laterale approssimativamente di 23 mm. **Figura 2b:** Primo esame RM, sezione sagittale SET1 effettuate dopo dose piena di contrasto: massa a partenza dalla sella turcica di forma ovalare che ha assunto *enhancement* omogeneo, di dimensioni approssimative di 16,33 mm in senso dorso-ventrale e 21 mm in quello oro-aborale. **Figura 2c:** Secondo esame RM, sezione trasversa SET1 dopo somministrazione di mezzo di contrasto, la massa è decisamente meno voluminosa, soprattutto nella sua porzione sinistra (da 12,62 mm a 8,16 mm). **Figura 2d:** Secondo esame RM, sezione sagittale SET1 dopo somministrazione di mezzo di contrasto. Si evidenzia una netta riduzione di volume della massa. **Figura 2e:** Terzo esame RM, sezione trasversa SET1 dopo somministrazione di mezzo di contrasto e **Figura 2f:** Terzo esame RM, sezione sagittale dopo somministrazione di mezzo di contrasto: la massa assume scarsamente *enhancement* ed è di dimensioni decisamente ridotte rispetto al primo e al secondo esame RM.

La massa ha segnale disomogeneamente iso/ipero intenso nelle sequenze pesate in SET1, SET2 e Flair e assume contrasto in modo omogeneo. Il P/B ratio era di 1,28. Le immagini erano compatibili in prima istanza con un macroadenoma dell'ipofisi, nonostante non potesse essere comunque escluso un meningioma della sella turcica per la lieve asimmetria di crescita della massa. La diagnosi clinica e di laboratorio di sindrome di Cushing, associata alle immagini osservate in RMN, hanno consentito di formulare la diagnosi definitiva di macroadenoma ipofisario.

La terapia proposta è stata la radioterapia o la rimozione chirurgica della massa neoplastica e il proprietario ha deciso di sottoporre il cane alla nostra valutazione presso l'Ospedale Didattico del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna per l'esecuzione dell'ipofisectomia transsfenoidale.

In previsione della chirurgia la terapia con trilostano è stata sospesa 3 giorni prima dell'intervento, mentre la desmopressina è stata somministrata fino alla mattina dell'intervento.

Il protocollo anestesilogico è consistito in una premedicazione con midazolam (0,2 mg/Kg EV), con un successivo bolo carico di fentanyl citrato (0,002 mg/Kg EV), al quale è seguita l'infusione dello stesso agente analgesico a dosaggi variabili (da 0,003 a 0,008 mg/kg/h EV) per tutta la durata della procedura anestesilogica. L'induzione è stata effettuata con propofol (2 mg/Kg EV) e il mantenimento condotto con propofol in infusione (da 0,2 a 0,4mg/Kg/h EV) in ventilazione assistita a pressione positiva intermittente (IPPV) con isofluorano (da 0,8 a 1,2%) in ossigeno puro⁷.

All'induzione è stata somministrata ampicillina e sulbactam (20 mg/kg EV). Sono stati monitorati la pulsiossimetria, la capnografia, l'elettrocardiogramma, la pressione arteriosa invasiva, la temperatura rettale e l'output urinario previo posizionamento di un catetere urinario tipo Foley. Inoltre, subito dopo l'induzione, è stato posizionato un catetere venoso centrale per misurare la pressione venosa centrale e poter eseguire agevolmente i prelievi ematici. Durante l'anestesia è stata somministrata una soluzione di NaCl allo 0,45% e glucosata al 2,5% (10 ml/kg/h), supplementata con 10 mEq di KCl/500 ml⁸. Durante il periodo chirurgico sono stati effettuati dei prelievi seriali per il monitoraggio

della glicemia e degli elettroliti⁸, al fine di rilevare possibili alterazioni (ad esempio ipoglicemia, ipernatremia).

L'ipofisectomia è stata eseguita mediante un approccio transorale e transsfenoidale seguendo la tecnica descritta da Meij⁹.

L'animale è stato posizionato in decubito sternale con la testa sollevata rispetto al corpo per facilitare il deflusso di sangue dalle vene giugulari ed evitare la congestione venosa, garantendo una normale perfusione cerebrale. Il collo è stato sostenuto mediante sostegni morbidi al fine di evitare le possibili tensioni sui muscoli cervicali. Per ottenere una visione ampia del campo operatorio, la mascella è stata fissata tramite i denti canini ad una barra orizzontale di sostegno, mentre la mandibola è stata retratta ventralmente il più possibile con una benda orlata ancorata al tavolo operatorio. E' stato poi utilizzato del cerotto per migliorare l'immobilità del cranio⁹.

Prima della disinfezione del cavo orale mediante iodio povidone al 10% è stata posizionata una garza nell'orofaringe per evitare complicazioni dovute all'aspirazione della soluzione disinfettante e successivamente di sangue.

L'incisione del palato molle a tutto spessore è stata eseguita tramite elettrobisturi monopolare; una volta raggiunto il rinofaringe è stato applicato un retrattore autostatico di Gelpi e sono state posizionate delle suture di ancoraggio per divaricare ulteriormente i lembi del palato molle, permettendo una ampia visione del mucoperiostio sfenoidale. A questo punto è stato necessario riferirsi alla diagnostica per immagini avanzata per individuare i punti di repere per l'esecuzione dell'accesso allo sfenoide mediante fresa pneumatica. La RM non permetteva tuttavia di individuare con certezza i landmark ossei costituiti dall'apice dei processi amulari dell'osso pterigoideo e dalla presenza di un rilievo/solco nella porzione mediana dell'osso sfenoide^{5,9}. Si è deciso quindi di procedere secondo l'esperienza acquisita dal chirurgo, cioè si è iniziato a fresare in posizione mediana tra i processi amulari, nella loro porzione più caudale e in corrispondenza di un sospetto residuo embrionale dell'arteria emissaria^{10,11}. Raggiunto l'endostio si è proceduto alla rimozione di

quest'ultimo con l'utilizzo di cucchiai di Volkmann e ossivore Kerrison permettendo la visualizzazione della dura madre. Questa apertura non ha permesso di evidenziare la sella turcica, ma si è rivelata essere leggermente caudale, in corrispondenza dei corpi mammillari e/o della fossa interpeduncolare. E' stata così eseguita una seconda apertura più craniale (0,5 x 1 cm) in corrispondenza della sella turcica.

Da questo varco la dura madre, ancora presente, lasciava trasparire un tessuto di colorito rosato, disomogeneo al centro, con ai lati due strutture vascolari di colorazione bluastra, compatibili con i seni cavernosi, che decorrono lateralmente alla ghiandola. La meninge è stata incisa mediante lama da bisturi n. 11 e successivamente l'apertura è stata ampliata mediante l'uso di un uncino. In seguito all'incisione della meninge si è avuta la fuoriuscita del liquido cefalorachidiano in sincronia con gli atti respiratori. L'estensione della neoformazione è stata sondata con un uncino atraumatico. L'asportazione della massa è stata praticata per frammentazione della stessa, mediante pinze da ipofisi ed una curette auricolare atraumatica supportata da una contemporanea blanda aspirazione fino alla visualizzazione della base dell'ipotalamo e del recesso del terzo ventricolo (Fig. 3).

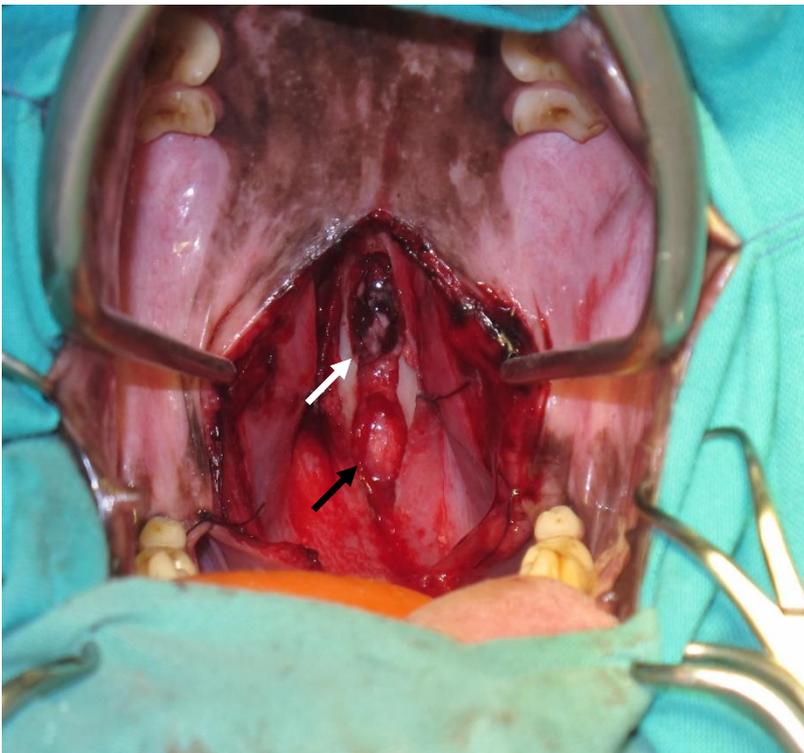


Figura 3

Foto intraoperatoria, primo intervento chirurgico. Dall'apertura più dorsale dell'osso sfenoide, in corrispondenza della sella turcica, dopo l'incisione della dura madre è possibile visualizzare il materiale neoplastico di colore rosato-rosso scuro disomogeneo (freccia bianca). L'apertura più ventrale (freccia nera) corrisponde al primo accesso all'osso sfenoidale troppo caudale.

Un'ulteriore ed ultima pulizia della cavità è stata praticata mediante l'utilizzo di una spugna di cellulosa emostatica, facendola ruotare all'interno della cavità stessa. Infine, per riempire la cavità che residuava dopo l'asportazione della neoformazione, è stata posizionata nel difetto una porzione di spugna emostatica.

Le aperture eseguite nell'osso sfenoidale sono state chiuse con cera per ossa e il mucoperiostio ricostruito interamente mediante una sutura continua, utilizzando Polysorb® 3-0. Il palato molle è stato suturato sempre con Polysorb® 3-0, con una sutura continua per la mucosa del rinofaringe e punti nodosi staccati per la mucosa dell'orofaringe⁹.

Il protocollo terapeutico impostato nell'immediato post-operatorio ha previsto la somministrazione di ampicillina e sulbactam (20 mg/kg TID EV), fentanil CRI (0,002 mg/kg/h) per le prime dodici ore, sostituito il giorno seguente con metadone (0,2 mg/kg ogni 4-6 ore a seconda della necessità). Sono stati inoltre somministrati desmopressina (1 goccia nel sacco congiuntivale BID) e levotiroxina (20 mcg/kg SID). La fluidoterapia è stata continuata sulla base del monitoraggio emogasanalitico e pressorio del paziente. La somministrazione di glucocorticoidi, metilprednisolone succinato (1mg/kg BID EV), è iniziata la mattina seguente all'intervento.

Al momento del risveglio dall'anestesia il cane ha mostrato agitazione, esoftalmo e tumefazione dei muscoli masseteri e temporali, nonché ipertensione arteriosa. E' stata pertanto incrementata l'analgia e somministrato midazolam CRI (0,06 mg/kg/h EV), mannitolo (1g/kg EV in 20 minuti) e furosemide (1 mg/kg EV). Apparentemente, solo la furosemide ha determinato un beneficio nel controllo pressorio.

Nei tre giorni seguenti i fenomeni ipertensivi si sono susseguiti, soprattutto durante le ore serali (l'intensità e la durata non sono stati tali da richiedere una terapia), mentre l'esoftalmo e la tumefazione dei muscoli masticatori è scomparsa il giorno successivo all'intervento. Il secondo giorno post-operatorio il cane ha ripreso a deambulare, continuando a mostrare compulsione e maneggio sinistro; ha ripreso ad alimentarsi spontaneamente e al quarto giorno post-operatorio è stata interrotta la fluidoterapia.

Il secondo giorno dopo l'intervento è stato eseguito uno Schirmer Tear Test per valutare la produzione lacrimale, che è risultata essere nella norma.

Il cane è stato dimesso in sesta giornata con terapia costituita da amoxicillina e acido clavulanico (20 mg/kg BID per OS per 15 giorni), tramadolo (3 mg/kg BID per OS per 5 giorni), prednisone (0,5 mg/kg BID per OS per la prima settimana, per poi scalare nella seconda settimana a 0,25 mg/kg BID e 0,25 mg/kg SID dalla quarta settimana), levotiroxina (20 mcg/kg SID) e desmopressina (1 goccia nel sacco congiuntivale di un occhio BID per due settimane).

La sintomatologia neurologica è cessata circa quindici giorni dopo l'intervento; il cane è tornato ad essere interattivo con i proprietari e con gli altri cani.

I campioni intraoperatori di tessuto ipofisario sono stati fissati immediatamente in formalina tamponata al 10% e processati per ottenere sezioni istologiche di 5 µm colorate con Ematossilina-Eosina. I frammenti tissutali esaminati comprendevano cellule neoplastiche organizzate in nidi, isole, trabecole tra le quali si riscontravano alcuni follicoli contenenti materiale eosinofilo amorfo (colloide) (Fig. 4).

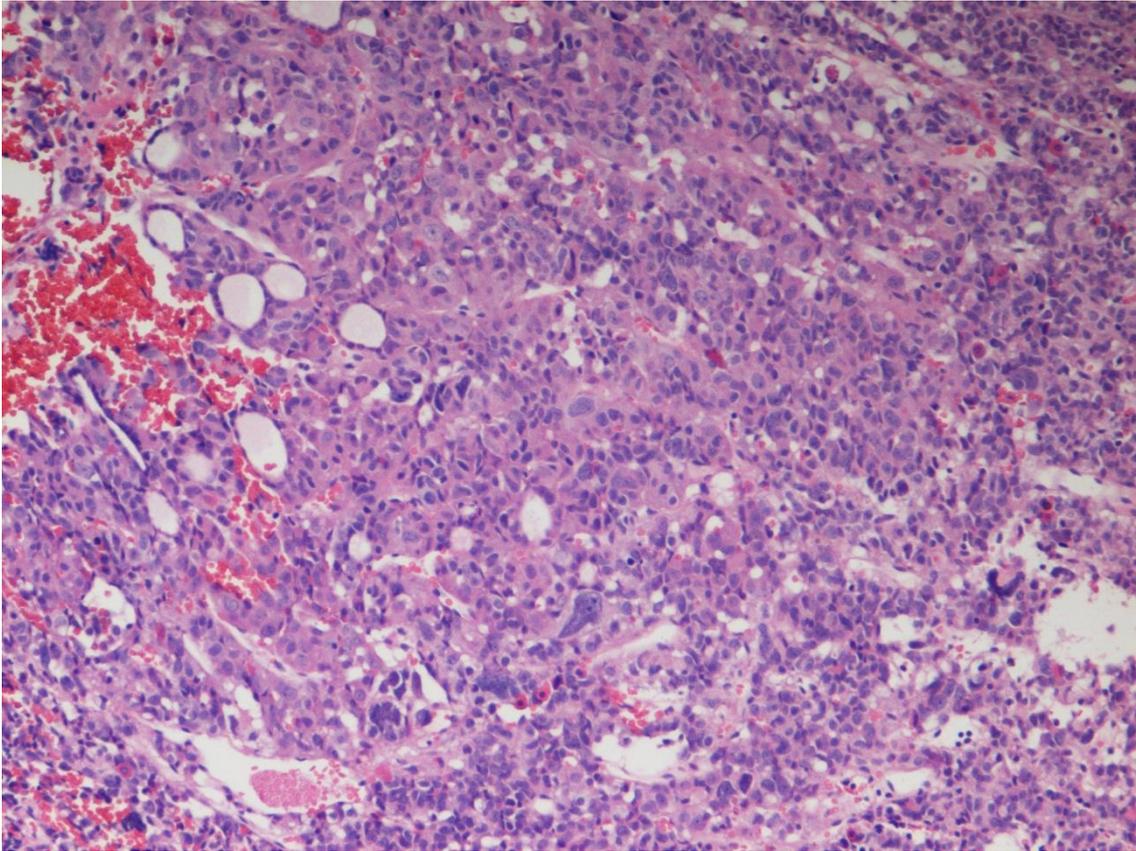


Figura 4

Microscopia ottica della massa rimossa, ingrandimento 10x, colorazione con ematossilina-eosina. Le cellule neoplastiche sono organizzate in isole e trabecole tra le quali si riscontrano alcuni follicoli contenenti raro materiale eosinofilo amorfo riferibile a colloide. Le cellule neoplastiche mostrano limiti citoplasmatici definiti, contengono una moderata quantità di citoplasma; i nuclei ipocromatici sono tondeggianti, spesso vescicolosi e contengono due o tre nucleoli; in alcuni campi sono presenti alcuni macronuclei. Anisocitosi e anisocariosi sono moderate. Tali aspetti sono compatibili con adenoma della *pars distalis*.

Le cellule neoplastiche mostravano due fenotipi: alcune erano di dimensioni piuttosto piccole e possedevano un citoplasma basofilo che oscurava i dettagli nucleari, mentre le altre, più grandi e con limiti citoplasmatici definiti, contenevano una moderata quantità di citoplasma cromofobo; i nuclei ipocromatici erano tondeggianti, spesso vescicolosi e contenevano due-tre nucleoli. In alcuni campi erano presenti alcuni macronuclei. Anisocitosi e anisocariosi erano moderate. Le figure mitotiche erano meno di una per 10 campi a forte ingrandimento (obiettivo 40x). Lo stroma intratumorale era

riccamente vascolarizzato da parte di strutture che davano origine sia a spazi lacunari che capillari. La diagnosi istologica è stata di adenoma della *pars distalis* dell'ipofisi.

A due mesi dall'intervento chirurgico il cane era in buone condizioni cliniche, non mostrava poliuria e polidipsia, tuttavia la cute permaneva alopecica ed assottigliata. Alla visita neurologica il cane non mostrava alcun deficit.

Nei due mesi successivi tuttavia la condizione neurologica è progressivamente peggiorata, con comparsa di depressione del sensorio sempre più grave e stato di apatia. È stata eseguita una RM di controllo che ha consentito di rilevare, rispetto allo studio precedente, una massa meno sviluppata in senso dorsale, totalmente asportata nella sua porzione destra, e decisamente meno voluminosa nella sua porzione sinistra (da mm 12,62 a mm 8,16) (Fig. 2c, 2d). Si è pertanto deciso di sospendere la terapia di supplementazione con prednisone, vista la presenza di una porzione della massa. Alla sospensione dei corticosteroidi il cane non ha mostrato alcun segno di ipocortisolismo.

A fronte di questa RM si è deciso di sottoporre il soggetto ad un nuovo intervento chirurgico per asportare il tessuto neoplastico residuo.

I protocolli anestesiológico e chirurgico sono stati i medesimi del primo intervento, con l'eccezione dell'apertura dello sfenoide, che era già presente semplicemente rimuovendo la cera per ossa ancora in situ. Una volta raggiunta la sella turcica, è stato asportato abbondante materiale fino a quando la superficie ventrale dell'ipotalamo è risultata chiaramente visibile. La chiusura del sito chirurgico ha ripercorso i passaggi già descritti nel primo intervento, tuttavia non è stato possibile suturare completamente il mucoperiostio.

Nel periodo post-operatorio i problemi riscontrati sono stati ipertermia, che si accentuava in seguito a deambulazione (temperatura fino a 40,5°C), e ipernatremia. Visto il rialzo termico è stata aggiunta marbofloxacin (2 mg/kg IV SID) la quale non ha sortito effetto. L'ipertermia si è risolta dopo 5 giorni. Le terapie mediche di supplementazione e post-operatorie sono rimaste invariate rispetto al

primo intervento con la sola differenza che la fluidoterapia con NaCl 0,45% e glucosata 2,5% è stata mantenuta per circa 10 giorni; inoltre la somministrazione di desmopressina è stata incrementata da 1 goccia BID a 1 goccia TID dopo il secondo intervento chirurgico. Nel decorso post-operatorio la condizione neurologica è peggiorata con manifestazioni di maneggio destro e compulsione. Tale sintomatologia è regredita spontaneamente nell'arco di circa dieci giorni.

Il paziente è stato dimesso al decimo giorno post-operatorio con terapia antibiotica, amoxicillina e acido clavulanico (20 mg/kg BID per OS per 7 giorni), cortisone acetato (0,25 mg/kg BID da scalare dopo due settimane a 0,25 mg/kg SID), tiroxina (15 mcg/kg BID) e desmopressina (1 goccia nel sacco congiuntivale di un occhio TID). La desmopressina è stata sospesa una settimana dopo la dimissione, tuttavia, visto il ripresentarsi di poliuria e polidipsia, si è deciso di reintrodurre tale terapia.

La diagnosi istologica sui frammenti tissutali asportati ricalcava la precedente, era inoltre presente del tessuto post-emorragico in organizzazione.

La ripresa clinica del soggetto dopo il secondo intervento è stata sensibilmente più lenta. I segni neurologici sono regrediti pressoché completamente; tuttavia, per circa due mesi, il soggetto ha continuato a manifestare riluttanza al movimento, astenia e rigidità agli arti posteriori.

Sono stati eseguiti esami emato-biochimici dopo 20 giorni dal secondo intervento, per valutare lo stato generale del paziente, sono inoltre stati misurati gli elettroliti e gli ormoni tiroidei, risultanti nella norma, ad eccezione per il T4 che è risultato lievemente basso (13,9 pmol/L, range 15,1-42,3). La seconda RM di controllo, effettuata a 60 giorni dal secondo intervento, ha mostrato nella regione soprasellare una piccola area irregolarmente sferoidale dalle dimensioni di 5,9 mm di larghezza, 5,2 mm di altezza e 6,2 mm di lunghezza. La lesione evidenziata, iso-intensa nelle sequenze pesate T1 e lievemente iperintensa in quelle pesate in T2 e che ha assunto lieve *enhancement* dopo somministrazione di mezzo di contrasto. Non era presente effetto massa sulle strutture encefaliche mediane, né era apprezzabile edema perilesionale. L'esame ha permesso di rilevare ampliamento dei solchi e dei ventricoli laterali (Fig. 2e, 2f).

A 7 mesi dal primo intervento e 3 mesi dal secondo intervento il cane è in buone condizioni generali e le uniche alterazioni sono una lieve atassia e riluttanza a correre. Le alterazioni dermatologiche sono regredite pressoché completamente e anche la poliuria-polidipsia risultava adeguatamente controllata. Gli esami emato-biochimici sono rientrati nella norma ad eccezione di lievi alterazione di ALT (151 , range 22-78 U/L) e GGT (17,6, range 1,2-10,9 U/L).

DISCUSSIONE

Varie sono le modalità di classificazione degli adenomi ipofisari in base alle loro dimensioni. Nel presente lavoro si è deciso di utilizzare la metodica proposta da Kooistra⁴ poiché valutando il rapporto tra l'altezza dell'ipofisi e l'area cerebrale è possibile minimizzare l'influenza data dal tipo di cranio e dalla taglia dell'animale. Nel paziente di questo report il P/B ratio era di 1,28 e pertanto si trattava di un macroadenoma (P/B normale <0,31)⁵. Gli adenomi ipofisari ACTH secernenti possono insorgere dalla *pars distalis* o dalla *pars intermedia* dell'adenoipofisi. Le cellule della PI, a differenza di quelle della PD, non presentano recettori per il cortisolo¹², non risentendo pertanto dell'effetto inibitorio di quest'ormone. Questo mancato feed-back potrebbe influenzare le dimensioni di tali neoplasie, si è pertanto supposto che gli adenomi della PI tendano ad aumentare maggiormente di volume rispetto agli adenomi della PD¹³. Nel presente caso l'esame istologico della neoformazione asportata ha evidenziato caratteristiche tissutali compatibili con adenoma originante dalla *pars intermedia*; ciò potrebbe dunque spiegare le notevoli dimensioni del tumore.

La TC risulta essere la metodica di diagnostica per immagini avanzata d'elezione nei soggetti da sottoporre ad ipofisectomia^{5,9}. Tale metodica permette infatti di evidenziare con chiarezza l'anatomia ossea del soggetto e di conseguenza i punti di reperi per accedere alla sella turcica^{5,9}. Nel soggetto in questione, considerando la rilevante sintomatologia neurologica, per formulare la diagnosi è stata scelta la RM e per motivi economici non è stato possibile effettuare anche l'esame TC prima dell'intervento. Tuttavia l'indagine eseguita ha permesso di visualizzare al meglio la massa e le

strutture adiacenti, anche se non ha consentito una adeguata valutazione dei punti di reperi chirurgici. Inoltre non è stato possibile stabilire prima della chirurgia lo spessore dell'osso sfenoidale, poiché la RM non forniva dettagli ossei adeguati. Un elevato spessore dell'osso sfenoidale è stato correlato ad una maggiore difficoltà nell'asportazione completa della neoplasia ed a un più alto tasso di recidiva³. Nel nostro caso l'osso non si presentava particolarmente spesso in sede intraoperatoria. Queste difficoltà, unitamente alla conformazione dolicocefalica del cane ed alla presenza di un probabile residuo vascolare embrionale a livello della faccia esocranica dello sfenoide, hanno contribuito ad un primo errato accesso chirurgico, risultato essere troppo caudale. Ciò non ha comunque inficiato l'esecuzione della chirurgia, tuttavia sottolinea l'importanza della complementarietà della RM e della TC per poter pianificare ed eseguire al meglio l'intervento.

Considerata la marcata sintomatologia neurologica, causata dalla compressione che il macroadenoma esercitava sull'ipotalamo, l'approccio chirurgico era l'unico che permettesse di ottenere una diminuzione dell'effetto massa in breve tempo. La radioterapia avrebbe potuto costituire una valida alternativa terapeutica^{14,15}, anche se in letteratura esistono dati discordanti relativamente alla sua efficacia nel trattamento di pazienti con grave sintomatologia neurologica¹⁶.

In medicina umana la terapia d'elezione nel caso di adenomi ipofisari è la rimozione chirurgica selettiva della porzione neoplastica della ghiandola¹⁷. Al contrario nel cane, per avere la sicurezza di asportare completamente il tumore, è necessario rimuovere l'ipofisi in toto¹⁸.

In entrambi gli interventi chirurgici non si sono verificate complicazioni intraoperatorie, quali ad esempio emorragie. Tale evenienza è stata descritta ed è uno degli inconvenienti intraoperatori di più difficile gestione⁸, soprattutto nel caso in cui venga lacerata la parete delle arterie carotidi interne, le quali decorrono all'interno dei seni cavernosi lateralmente all'ipofisi.

Le complicazioni post-operatorie conseguenti al primo intervento chirurgico, rappresentate da esoftalmo e tumefazione dei muscoli masticatori, sono già state segnalate da Meij⁸ e sembrano essere dovute al posizionamento a cui l'animale viene forzato durante l'intervento. Per ovviare a tale

problema gli autori sopra citati suggeriscono il rilascio temporaneo della mandibola in posizione quasi fisiologica ogni trenta minuti durante l'intervento, oppure la riduzione del grado di apertura della bocca⁸. Nel secondo intervento il cane è stato posizionato con una minore apertura della cavità orale e non si sono ripresentate tali complicazioni.

I fenomeni ipertensivi che si sono verificati nel primo periodo post-operatorio potevano essere causati dall'insufficiente analgesia o da un aumento della pressione intracranica conseguente all'intervento. Queste due ipotesi sono risultate tuttavia poco attendibili poiché tale complicanza non ha risposto né ad un incremento dell'analgesia né alla somministrazione di mannitolo, inoltre il paziente manteneva una frequenza cardiaca nella norma (70-100 battiti/minuto). Tale ipertensione non appariva correlata né con la somministrazione di desmopressina né con alterazioni della natremia. Rimane pertanto un dubbio interpretativo su tale complicazione.

L'ipernatremia, riportata frequentemente in letteratura nell'immediato periodo post-operatorio^{2,8,9}, non si è verificata in seguito al primo intervento chirurgico, mentre era presente ed è risultata di difficile controllo dopo il secondo intervento. Nei soggetti sottoposti ad ipofisectomia si verifica solitamente un deficit transitorio di liberazione di vasopressina, conseguente all'asportazione della neuroipofisi (serbatoio di vasopressina e ossitocina). Per evitare o limitare l'incremento ematico di sodio durante la chirurgia e nel periodo post-operatorio vengono somministrati fluidi poveri di sodio (NaCl 0,45% + glucosata 2,5%), nonché desmopressina subito dopo il risveglio dall'anestesia. Uno studio di Hara¹⁹ dimostra infatti che la somministrazione di desmopressina al termine dell'intervento chirurgico previene l'ipernatremia in soggetti sani ipofisectomizzati. Nei cani affetti da sindrome di Cushing sottoposti ad ipofisectomia è possibile che l'ipernatremia si sviluppi nelle prime ore e giorni post-operatori, nonostante la somministrazione di desmopressina, probabilmente per una resistenza cortisolo-indotta². L'assenza di squilibrio della natremia conseguente al primo intervento era probabilmente correlata ad una parziale asportazione della massa, senza che venisse danneggiata o asportata in toto la neuroipofisi. Il secondo intervento chirurgico è risultato più radicale e pertanto è

probabile che in tale occasione la neuroipofisi sia stata asportata completamente. In seguito all'ipofisectomia, in corso di microadenomi, si verifica un diabete insipido transitorio, che solitamente regredisce nell'arco di qualche settimana²⁰. Nel caso di neoplasie di notevoli dimensioni, la compressione esercitata sull'ipotalamo può determinare dei danni permanenti ai nuclei supraottico e paraventricolare (produttori di vasopressina), con conseguente diabete insipido permanente². Tale evenienza sembra essersi verificata nel soggetto del presente articolo, poiché la sospensione della desmopressina, dopo due settimane dal secondo intervento chirurgico, ha determinato la ricomparsa di poliuria e polidipsia.

L'ipertermia, manifestatasi dopo il secondo intervento, è stata probabilmente causata da una lesione parziale e transitoria dei nuclei ipotalamici termoregolatori durante la rimozione delle porzioni più dorsali della neoplasia. Anche la sintomatologia neurologica, manifestatasi dopo la seconda chirurgia, potrebbe essere stata conseguente alla diretta manipolazione chirurgica delle strutture encefaliche o alla formazione di edema secondario alla manipolazione stessa.

La somministrazione di mannitolo e un dosaggio maggiore di corticosteroidi avrebbero potuto potenzialmente alleviare tale sintomatologia, non sono stati tuttavia utilizzati per il difficile controllo della natremia e della poliuria. E' improbabile che un'infezione potesse rappresentare la causa dell'ipertermia, sia perché quest'ultima si è verificata immediatamente dopo l'intervento, sia perché il soggetto era sottoposto a terapia antibiotica ad ampio spettro. In seguito all'ipofisectomia non sono mai stati riportati, nel cane, fenomeni di infezione locale o meningiti, nonostante non venga attuata alcuna misura di disinfezione nel rinofaringe. Vengono però somministrati antibiotici ad ampio spettro per 10-15 giorni nel periodo post-operatorio^{2,8,21}.

In letteratura viene riportata una riduzione della secrezione lacrimale, più frequentemente a carico dell'occhio sinistro, in seguito all'intervento chirurgico⁸. Per tale motivo è stato eseguito lo Schirmer Tear Test volto alla valutazione quantitativa della produzione lacrimale. La causa della riduzione della produzione lacrimale non è ancora stata chiarita.

Sarebbe interessante poter valutare attraverso studi prospettici se un approccio radioterapico post-chirurgico possa influenzare il decorso della malattia e i tempi di sopravvivenza. Nell'uomo l'utilizzo di una terapia radiante è prevista in seguito a persistenza o recidiva di un adenoma ipofisario ACTH-secrente, con lo scopo di diminuirne la secrezione ormonale, ridurre il rischio di recidiva e possibilmente diminuire le dimensioni del tumore. Le complicazioni possibili sono necrosi dei tessuti circostanti a quelli irradiati, panipopituitarismo, vasculopatie a carico del tessuto cerebrale e neoplasie correlate all'irradiazione. E' inoltre necessario un certo periodo di tempo perché gli effetti della radioterapia determinino un effetto evidente sul tessuto neoplastico rimasto in situ²².

In letteratura viene indicato che maggiori sono le dimensioni dell'adenoma ipofisario e maggiore è lo spessore dell'osso sfenoidale, maggiori sono le difficoltà di ablazione completa della massa e maggiori sono le probabilità di recidiva³. Lo scopo principale dell'ipofisectomia in caso di macroadenomi di notevoli dimensioni è il miglioramento della sintomatologia neurologica, mentre non è sempre possibile raggiungere la completa guarigione per quanto riguarda l'ipercortisolismo. In tali casi è pertanto necessario continuare/intraprendere la terapia medica. In letteratura scarsi sono i dati relativi alla prosecuzione dell'iter terapeutico in caso di recidiva della sintomatologia neurologica in seguito ad un primo intervento chirurgico.

In Medicina Umana l'opzione di eseguire un secondo intervento chirurgico, in caso di persistenza/recidiva dell'adenoma, determina la remissione della patologia nel 70% dei casi²². Il reintervento è inoltre considerato relativamente sicuro e la più comune complicazione è rappresentata dal panipopituitarismo²². Pur avendo proposto un protocollo radioterapico, nel presente caso, al ripresentarsi della sintomatologia disendocrina e neurologica, si è optato per una seconda chirurgia, che ha avuto un buon esito. Non sono state inoltre osservate complicazioni correlate ad eventuali modificazioni anatomiche conseguenti alla prima chirurgia.

All'ultima RM di controllo (Fig. 2e, 2f) si osservava una notevole riduzione delle dimensioni della neoformazione e la lesione visibile poteva essere compatibile semplicemente con l'esito cicatriziale dell'intervento chirurgico.

Il presente lavoro evidenzia come l'intervento d'ipofisectomia possa risultare una tecnica adeguata in soggetti con sintomatologia neurologica causata da macroadenomi ipofisari di notevoli dimensioni. Inoltre possiamo affermare che nel caso di asportazione incompleta della massa un secondo intervento chirurgico possa rappresentare un'opzione possibile ed efficace.

Ringraziamenti

Siamo estremamente grati alla collega Dr. Alessandra Lionello, proprietaria di Lima, per la grande collaborazione.

Un sentito ringraziamento va fatto al Prof. Bjorn Petrus Meij per la sua grande umiltà, disponibilità all'insegnamento e per averci trasmesso le conoscenze necessarie per la gestione del caso in autonomia.

Bibliografia

1. Galac S., Reusch C.E., Kooistra H.S., Rijnberk A. In: Clinical Endocrinology of Dogs and Cats, An Illustrated Text. Eds Rijnberk A.D., Kooistra H.S. Schluetersche, Hannover, 2010, pp 93-154.
2. Hanson J.M., van't Hoofd M.M., Voorhout G., Teske A., et al: Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. J Vet Intern Med; 19: 687-694, 2005.

3. Hanson J.M., Teske E., Voorhout G., Galac S., et al: Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Neurosurg*; 107: 830-840, 2007.
4. Kooistra H.S., Voorhout G., Mol J.A., Rijnberk A.: Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Endocrinol*; 152: 387-394, 1997.
5. Auriemma E., Barthez P.Y., van der Vlugt-Mejer R.H., Voorhout G., et al: Computed tomography and low-field magnetic imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 11 cases (2001-2003). *J Am Vet Med Assoc*; 235: 409-414, 2009.
6. Feldman E.C., Nelson R.W.: Disorders of growth hormone. In: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Eds Feldman E.C., Nelson R.W., Saunders, St. Louis, Missouri, 2004, pp 45-84.
7. Leece E: Neurological Disease. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Anesthesia and Analgesia*, 2nd edn. Eds Seymour C., Duke-Novarski T., Lookers, Upton, Dorset, 2007, pp 284-295.
8. Meij B.P., Voorhout G., van den Ingh T.S.G.A.M., Bever M.M., et al: Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Surg*; 27: 246-261, 1998.
9. Meij B.P., Voorhout G., van den Ingh T.S.G.A.M., Hazewinkel H.A.W., et al: Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. *Vet Surg*; 26: 295-309, 1997.

10. Niebauer G.W., Evans S.M.: Transsphenoidal hypophysectomy in the dog. A new technique. *Vet Surg*; 17: 296-303, 1988.
11. Niebauer G.W.: Hypophysectomy. In *Textbook of small animal surgery* 3rd edn. Ed Slatter D., Saunders, Philadelphia, 2003, pp 1677-1694.
12. Antakly T., Sasaki A., Liotta A.S., Palkovis M., et al: Induced expression of glucocorticoid receptor in the rat intermediate pituitary lobe. *Sci*; 229: 277-279, 1985.
13. Bosje J.T., Rijnberk A., Mol J.A., Voorhout G., et al: Plasma concentrations of ACTH precursors correlate with pituitary size and resistance to the dexamethasone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Dome Anim Endocrinol*; 22: 201-210, 2002.
14. Kent M.S., Bommarito D., Feldman E., Theon A.P., et al: Survival, neurologic respons, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J Vet Intern Med*; 21: 1027-1033, 2007.
15. de Fourenel P., Delisle F., Devauchele P., Rosemberg D.: Effects of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumors in dogs: a retrospective study of 12 cases. *Can Vet J*; 48: 481-486, 2007.
16. Theon A.P., Feldman E.C.: Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurological signs. *J Am Vet Med Assoc*; 213: 225-231, 1998.
17. Biller B.M., Grossman A.B., Stewart P.M., Melmed S., et al.: Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab*; 93: 2454-2462, 2008.
18. Voorhout G., Meij P.B., van den Ingh T.S.G.A.M., van der Vlugt-Meijer R.H., et al.: Dynamic computed tomography of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent

hyperadrenocorticism. In Department of Clinical Companion Animals, Faculty of Veterinary Medicine. Utrecht: Utrecht University, pp 205-222, 1997.

19. Hara Y., Masuda H., Taoda T., Hasegawa D., et al.: Prophylactic Efficacy of Desmopressin Acetate for Diabetes Insipidus after Hypophysectomy in the Dog. *J Vet Med Sci* 65:17-22, 2003.
20. Meij B.P., Mol J.A., van den Ingh T.S.G.A.M., Bevers M.M., et al: Assessment of pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy. *Domest Anim Endocrinol*; 14: 81-97, 1997.
21. Meij B.P.: Hypophysectomy in dogs: a review. *Vet Q*; 21: 134-141, 1999.
22. Liu J.K., Fleseriu M., Delashow J.B., Ciric I.S., et al.: Treatment option for Cushing disease after unsuccessful transphenoidal surgery. *Neurosurg Focus*; 23: 1-7, 2007.

5. TRANSSPHENOIDAL HYPOPHYSECTOMY AND RADIOTHERAPY FOR
THE LONG-TERM MANAGEMENT OF A PITUITARY MARIADENOMA IN A
DOG.

Del Magno S¹, Mandrioli L¹, Grinwis GCM², Sirri R¹, Pisoni L¹, Rossi F³, Gandini G¹, Meij BP²,
Fracassi F¹.

1. Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna,
Ozzano dell'Emilia, Italy.
2. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
3. Centro Oncologico Veterinario, Sasso Marconi, Italy.

Questo articolo verrà inviato alla rivista Australian Veterinary Journal

Abstract

A 7 year-old male Maltese dog was presented for polyuria, polydipsia, polyphagia, trunkal alopecia and seizures. A pituitary-dependent hypercortisolism was diagnosed and a macroadenoma was detected on CT. Transsphenoidal hypophysectomy was performed and from the surgical samples of the mass a diagnosis of corticotroph pituitary adenoma was made. The hypercortisolism recurred after three years of remission and a medical therapy was started as a tissue present in the pituitary region was seen on CT (interpreted as neoplastic regrowth). After one year the dog showed again neurological signs caused by large macroadenoma successfully treated by radiation therapy. The dog lived in total 6 years from the first time of diagnosis of macroadenoma. The term “atypical adenoma” was adopted for the neoplastic tissue examined after death. This is the first report of a long-term survival of a dog affected by a pituitary adenoma that was treated by surgery and subsequently by radiation therapy. This combined approach toward aggressive pituitary tumors may significantly prolong life-expectancy in these patients.

Keywords: pituitary gland, macroadenoma, transsphenoidal hypophysectomy, radiotherapy, dog, hypercortisolism.

Introduction

Pituitary adrenocorticotropin (ACTH) secreting adenomas are the most commonly diagnosed pituitary neoplasia in the dog (1, 2). These tumors can be classified in microadenoma and macroadenoma according to their size and are responsible of the Cushing's disease (3). Polyuria, polydipsia, polyphagia, enlargement of the abdomen and trunkal alopecia and the most commonly observed clinical signs (3) and they are usually related to the hypercortisolemic state. In 10-20% of the cases neurological signs are evident and are caused by the compression of the macroadenoma on the cerebral structures around the *fossa hypophysialis* (4).

The reported therapeutic options for ACTH-secreting macroadenomas who causes neurological signs are the surgical removal of the tumor (5) and radiotherapy (6,7,8). In veterinary medicine no studies compare the two treatments and there is not a consensus about which one should be the first line option. With both treatments the size of the tumor has an impact on the prognosis and with larger pituitary macroadenomas the recurrence of the disease is commonly observed (6,8,9). Transsphenoidal hypophysectomy in case of ACTH-secreting macroadenoma can be curative both for the mass effect and the hypercortisolemic state (5,10). However, if the tumor is particularly large, the aim of surgery is to remove the more neoplastic tissue as possible (10). In these cases, persistence or recurrence after surgery of the hypercortisolism is common (5). Radiation treatment gives usually remarkable reduction in the size of the adenoma within months, and therefore it is indicated mainly in dogs with macroadenomas without or with only mild neurological signs (7,8).

In human patients surgery is the first line treatment for Cushing's disease and in case of persistence or recurrence of the hypercortisolism, reoperation or radiotherapy are considered (11,12,13). In humans radiotherapy in case of recurrences of Cushing's disease after surgery gives usually good local control of the neoplasia (14,15). In veterinary medicine no information are available about the best option in case of recurrence of pituitary-dependent hypercortisolism after transsphenoidal hypophysectomy.

This case report aims to describe the combination of transsphenoidal hypophysectomy and radiotherapy for the long-term management of a pituitary “atypical” adenoma.

Case report

A 7 year-old male Maltese dog of 6 kg of body weight was presented for polyuria, polydipsia, polyphagia and symmetrical alopecia of 4 months duration. The dog presented two episodes of seizures in the previous week. On physical examination bilateral and symmetrical alopecia of the trunk was evident and the neurological examination was within normal limits. Hematology showed a mild thrombocytosis ($523000/\text{mm}^3$, range 160000-500000) and lymphopenia ($430/\text{mm}^3$, range 1000-4800). On biochemistry a moderate elevation of the serum hepatic enzymes (alanine transaminase 441 U/l, reference range 20-55 U/l; alkaline phosphatase 787 U/l, reference range 42-180 U/l; gamma glutamyl transpherase 68.1 U/l, reference range 0-5.8) and a mild elevation of serum phosphate (5.2 mg/dl, reference range 2.6-4.9 mg/dl) were present. The specific gravity of the urine was 1008. Together those findings supported a suspect of hypercortisolism. The diagnosis was confirmed with the ACTH stimulation test (using 0.25 mg tetracosactide esacetate IV), the low dose dexamethasone suppression test (0.01 mg/kg IV) and urinary cortisol-creatinine ratio (UCCR) measured on three consecutive morning samples collected at home, the last one after oral administration of 0.1 mg/kg of dexamethasone (16,17). The basal and post ACTH plasma cortisol concentrations were 5.70 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (reference range 1.0-4.8 $\mu\text{g}/\text{dl}$) and 48.70 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (reference range 6.0-17.2 $\mu\text{g}/\text{dl}$) respectively. There was no adequate suppression after low dose administration of dexamethasone. Cortisol at 0 hr was 3.6 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (reference range 1-4.8 $\mu\text{g}/\text{dl}$), 3 $\mu\text{g}/\text{dl}$ at 4 hr (reference range <1.4 $\mu\text{g}/\text{dl}$) and 4.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ at 8 hr (reference range <1.4 $\mu\text{g}/\text{dl}$). The UCCR was 342.8 on the first morning, 317.9 on the second morning and 302.9 on the third morning after oral dexamethasone administration. In order to characterize the origin of the not suppressing hypercortisolism an abdominal ultrasonography and a computed tomography (CT) of the skull were performed. On abdominal ultrasonography, a bilateral

enlargement of the adrenal glands and an increased liver echogenicity were detected. The CT revealed a mass in the pituitary region with 9 mm of height (Fig.1) that was compatible with a pituitary tumor.

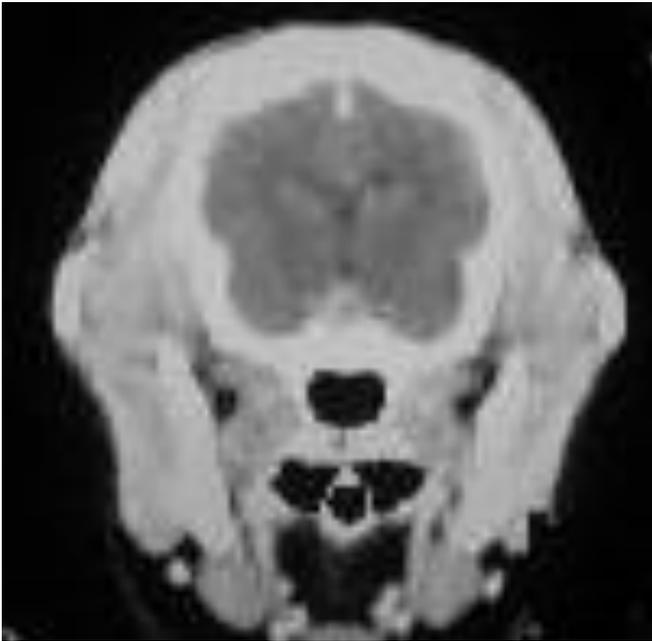


Figure 1

Transverse CT image after contrast enhancement of the cranium of a Maltese dog with pituitary-dependent hypercortisolism. A macroadenoma was evident, P/B value 0.75.

The mass had a pituitary/brain value (P/B value) of 0.75 (18), who confirmed the diagnosis of pituitary-dependent hypercortisolism (PDH). Transsphenoidal hypophysectomy was performed, according to a microsurgical technique described previously (19,20). The operation was performed with success and no post-operative complications were reported. After surgery, the dog received hormone supplementation with cortisone acetate (0.25 mg/kg q12 h), thyroxine (15 µg/kg q12 h) and desmopressin (1 drop, about 4 µg in the eye q12 h). The histological diagnosis was of a pituitary adenoma. Immunohistochemical staining was performed as described in previous studies (21,22,23,24); the histological sections were stained for ACTH, alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH) and growth hormone (GH) using the avidine-biotine technique with a monoclonal mouse antibody to synthetic ACTH₁₋₂₄ (Department of Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, The Netherlands), polyclonal rabbit antibodies to synthetic α -MSH (PU060-UP; Biogenex Laboratories, Duiven, The Netherlands), and rabbit

antibody to porcine GH (source 4750-3959; Biogenesis, Serotec, Oxford Biomedical Research, Oxford, UK). A positive, diffuse, cytoplasmic immunostaining for ACTH was showed by neoplastic pituitary adenoma cells.

After surgery, the clinical signs disappeared. Periodical clinical rechecks and UCCR tests were performed and they confirmed remission of the hypercortisolism.

About three years after surgery the dog showed again polyuria, polydipsia, polyphagia and alopecia. The physical examination showed trunkal alopecia and a marked atrophy of the testicles. A recurrence of Cushing syndrome was suspected. The UCCR was elevated (52, range < 33), the low dose dexamethasone suppression test and basal ACTH measurement confirmed the recurrence of hypercortisolism. Cortisol at 0 hr was 3.6 µg/dl (reference range 1-4.8 µg/dl) cortisol at 4 hr was 3 µg/dl (reference range <1.4 µg/dl), cortisol at 8 hr was 4.1 µg/dl (reference range 0-1.4 µg/dl) and the endogenous ACTH was 46.2 pg/ml (reference range 0.4-12.8 pg/ml). The ultrasonographic evaluation of the abdomen revealed normal adrenal glands and an homogenous increase of the echogenicity of the liver. CT scan revealed a sellar abnormal structure of 4 x 5 mm in size, who enhanced the contrast homogenously (Fig.2).



Figure 2

Transverse CT image after contrast enhancement of the cranium of a Maltese dog after recurrence of pituitary-dependent hypercortisolism. A small contrast-enhancing lesion was present on the left side of the *fossa hypophysialis*. The pituitary gland was not visible.

These findings were interpreted as neoplastic pituitary tissue regrowth. The hormonal supplementation with cortisone acetate was stopped; medical treatment with trilostane (10 mg OS BID) was started with a good control of the clinical signs. The administration of thyroxine and desmopressin was continued.

After 1 year from the recurrence of PDH, severe neurological signs occurred, particularly severe depression and the recurrence of seizures were described by the owner. The physical examination revealed an altered mental status; the neurological examination reported obtundation and stupor, a bilateral decreased menace response and unresponsive pupils. Mannitol (1g/kg) was administered and the neurological condition improved. A third CT scan evinced a relevant increase in the size of the sellar mass, with an asymmetric appearance on the left side (Fig.3).



Figure 3

Transverse CT image after contrast enhancement of the cranium of a Maltese dog after recurrence of pituitary-dependent hypercortisolism and recurrence of neurological signs. A large contrast-enhancing and asymmetric lesion was evident.

The shape of the neoplasia did not permit a second surgical approach, so radiotherapy was proposed. Radiation therapy was performed with 20 fractions of 2.25 Gy for 4 consecutive weeks. Neurological signs regressed within few weeks and trilostane therapy was continued to control the hypercortisolemic state.

After 2 years of good clinical condition, the dog showed difficulties in walking, moving the tail, urinating and defecating. The neurologic examination localized the problem in the L4-S1 area of the spinal cord. A magnetic resonance imaging (MRI) was performed and a lesion of the body of the seventh lumbar vertebra was visible; the epidural space, the meninges and the nerve roots showed an altered contrast enhancement; in the sellar region any mass was present.

After a sudden worsening of the clinical condition, characterized by paraplegia and urinary retention, the dog was euthanized. Only the brain was removed and formalin fixed. The macroscopic examination of the fixed tissue revealed a grey tissue in the pituitary region extending caudally to the mesencephalon (Fig.4,5).

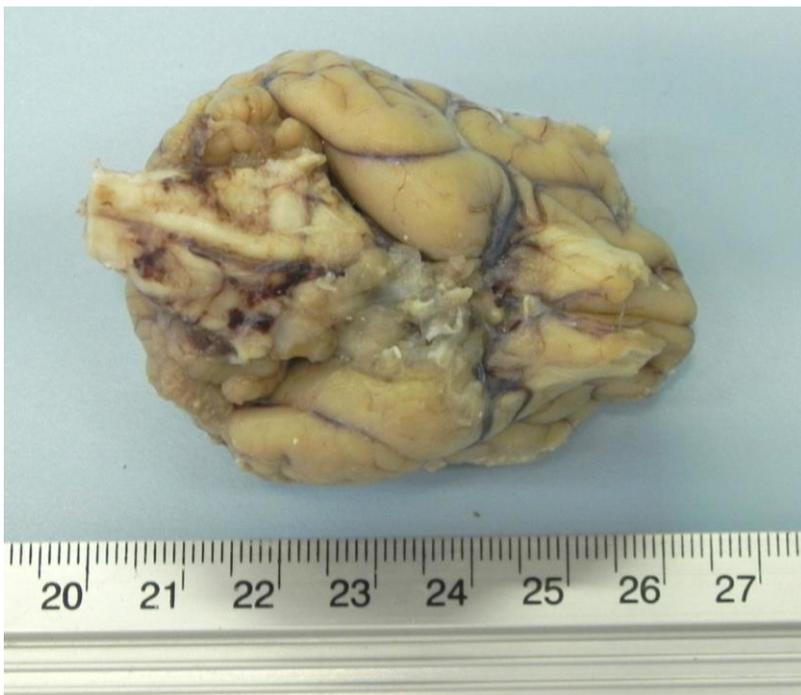


Figure 4

Formalin fixed brain, ventral view. Note the grey tissue present in the pituitary region.



Figure 5

Transverse sections of the formalin fixed brain. On the ventral aspect in the diencephalic region a grey tissue was present.

Histologically, an unencapsulated neoplastic tissue in contiguity with the meninges and infiltrating the neuropil was detected; neoplastic cells arranged in islands and cords were embedded in a rich amorphous eosinophilic extracellular matrix; neoplastic cells showed an intensely eosinophilic cytoplasm. The nucleus was vesicular with marginated chromatin and a prominent nucleolus. Anisocytosis and anisokariosis were moderate. Mitotic figures were three in ten random selected fields at HPF (400x magnification) (Fig.6).

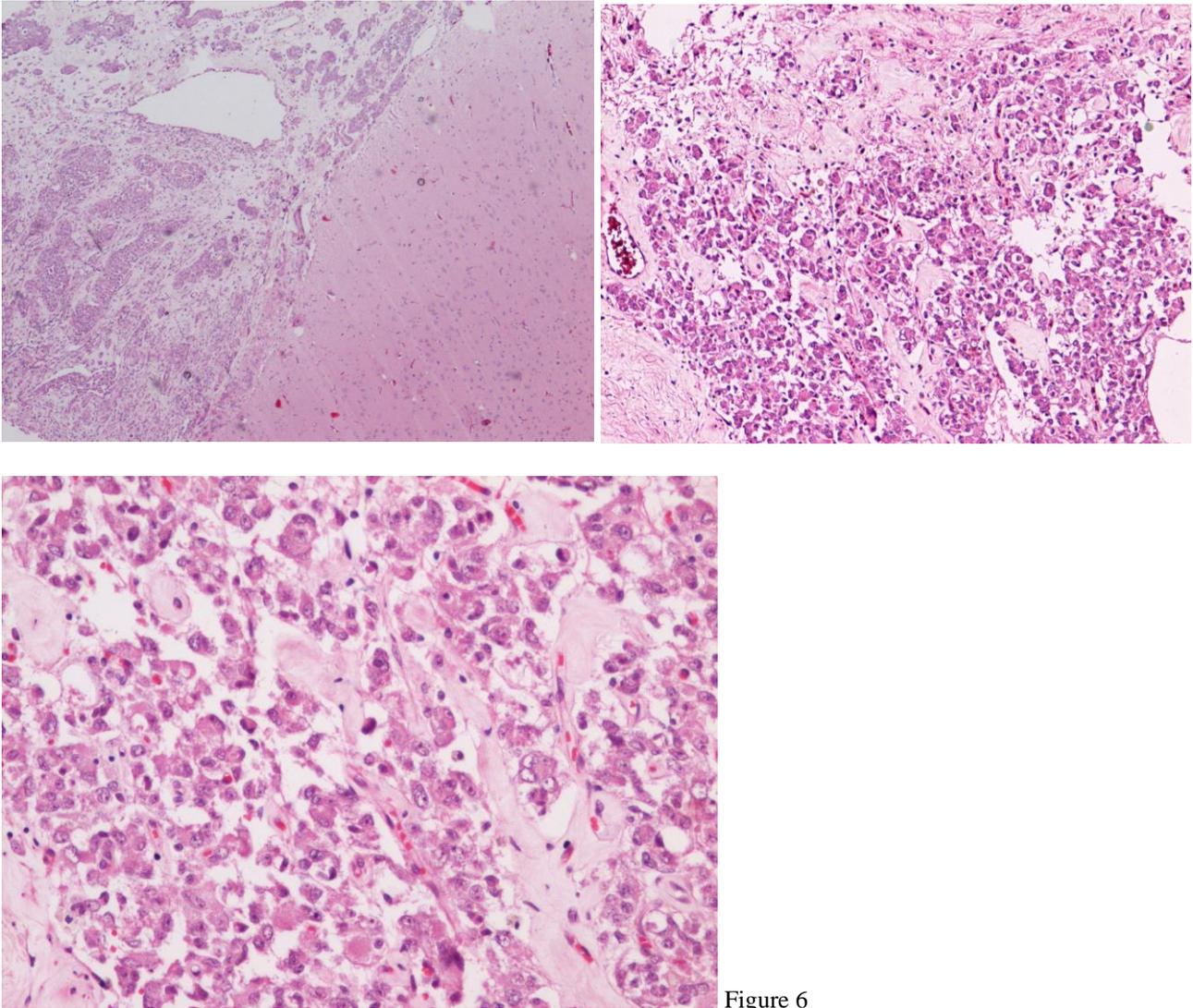


Figure 6

Hematoxylin and eosin staining- low power: neoplastic cells were arranged in islands and cords, they are embedded in an amorphous eosinophilic extracellular matrix. Neoplastic cells showed an intensely eosinophilic cytoplasm; the nucleus was vesicular, often two or three nuclei were seen, with chromatin margination and a prominent nucleolus. Anisocytosis and anisokaryosis were moderate. Mitotic figures were three in ten random selected fields (400x magnification).

An intense PAS-positivity of cytoplasm granules of the neoplastic cells was detected. Multifocally, pituitary neoplastic cells displayed an ACTH-immunoreactivity. Ki67 labelling index was 4.8%.

A diagnosis of a recurrent pituitary “atypical” corticotroph adenoma was made.

Discussion

Transsphenoidal hypophysectomy is an effective treatment for Cushing disease in dogs as in humans (5,12) and in the present report it allowed remission of the disease for 3 years.

Some prognostic factors have been reported in case of transsphenoidal hypophysectomy regarding recurrences and survival in veterinary medicine (9). The negative prognosticators reported in the literature for survival time are the advanced age of the dog at the time of surgery, large pituitary size, that can be also related to the lack of remission and recurrence of the disease, and the high plasma ACTH concentrations. The dog of the present report had high UCCRs (342.8, 317.9, 302.9). Elevated preoperative UCCR (>155) was associated with increased risk of recurrence in dogs (9). In particular high UCCR value after administration of dexamethasone (>155) is considered a prognostic factor for recurrence. In humans contrasting results emerged from the literature about prognostic factors for recurrence. Consensus was reached about cases of very large pituitary adenomas, who seem to have less chance to achieve and persist in remission after surgery, similarly to what has been observed in dogs (9,12,13). In humans low cortisol concentration after removal of the secreting-adenoma is linked with remission (13). In dogs serum ACTH concentration measured in the immediate post-operative period can give an indication about remission (25). In fact, thanks to the short half-life of the hormone, a fast decrease in its concentration is usually observed in dogs where surgery is curative (25).

In the case presented, the recurrence of hypercortisolism was initially controlled by trilostane; however when the mass effect occurred a different approach was necessary. At the first presentation surgery was considered the best therapeutic choice, but the asymmetric appearance of the large recurrent neoplasia did not allow reoperation. Based on the human medicine information, radiotherapy was believed to be the best option.

The quick improvement in the condition of the dog of the present report during radiation therapy was surprising. Despite the severe neurological signs, few weeks after the radiation treatment the dog regained a normal neurological state. In the literature it is reported that radiotherapy can give good

results in case of mild neurological signs, but the prognosis is guarded if the mass effect is relevant, such in this case. Indeed some months are usually needed to decrease the dimension of the tumor and during this period the neurological signs can be difficult to control. In dogs radiotherapy allows the reduction in the pituitary mass dimensions and delay the tumor enlargement, but usually it does not decrease the hypersecretion of ACTH (7,26) for this reason this dog was treated with trilostane.

The recurrence of Cushing's disease after surgery was observed in this dog after 3 years. It was speculated that such a late relapse of a pituitary tumor can be due to few neoplastic cells who persisted in the fossa hypophysialis after hypophysectomy or to the adenomatous transformation of nests of normal corticotrope cells, who often remain in the fossa after surgery (9). In human patients the incidence of recurrence peaked is between 1 and 5 years (12). So the recurrence at 3 years of this dog and the median human recurrence are comparable, however considering the differences in life expectancy, the recurrence for the dog of the present report can be considered late.

Seizure is not a common sign for a pituitary macroadenoma (26,27); however, in the dog of the present case seizures were the main neurological sign and regressed after hypophysectomy.

Pituitary tumors are usually considered benign by histologic criteria; however some macroadenomas exhibit an aggressive biologic behaviour due to the compression they exert on the surrounding cerebral tissue and to the speed of growth. To the best of our knowledge, no precise information and studies are present about the growing potential of these tumors in time, invasiveness and the potential transformation in carcinomas (28,29).

The Ki67 labelling in human pituitary adenoma is a well-known proliferation rate marker in humans (28,30,31,32). Studies on proliferation markers (Ki67 and MCM-7) in canine pituitary adenomas were limited to few papers: significant differences in Ki-67, PCNA and P27kip1 labelling indices were not found between enlarged and non-enlarged pituitaries (33). In humans the pituitary tumors with Ki-67 labelling of 3% are considered more aggressive and are called "atypical adenomas"; in the case here reported the Ki-67 labelling was 4.8%. On the basis on these considerations and the biologic behaviour of this tumor, the authors would suggest to define it "atypical adenoma". However

a clear classification histopathologic criteria for more aggressive pituitary neoplasia are missing both in dogs and in humans (30,34).

According to our experience, some adenomas, especially in middle age dogs, have a more aggressive behaviour and an objective method to assess the pathobiology, could be useful for the clinician.

In veterinary medicine, to the best of our knowledge, this is the first report where a recurrence after surgical removal of a pituitary tumor is managed with radiotherapy with a long-term outcome (7 years). It is likely that, similarly to what observed in humans, this comprehensive management can prolong quality and expectancy of life in dogs with macroadenomas.

References

3. Kooistra HS, Galac S, Buijtels JJCWM, Meij BP. Endocrine diseases in animals. *Horm Res* 2009; 1:144-147.
4. De Bruin C, Meij BP, Kooistra HS, et al. Cushing's disease in dogs and humans. *Horm Res* 2009; 71: 140-143.
5. Meij BP, Kooistra HS, Rijnberk A. Hypothalamus-pituitary system. In: *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats. An Illustrated Text*, 2nd edn. Eds A. Rijnberk, H.S. Kooistra. Schlutersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover, 2010: 13-54.
6. Feldman EC, Nelson RW. *Canine and feline endocrinology and reproduction*, 3rd edn. W.B. Saunders, Philadelphia, PA 2004.
7. Hanson JM, van't Hoofd MM, Voorhout G, et al. Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 687-694.

8. Kent MS, Bommarito D, Feldman E, et al. Survival, neurologic response, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 1027-1033.
9. De Fornel P, Delisle F, Devauchelle P, et al. Effect of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumor in dogs: a retrospective study of 12 cases. *Can Vet J* 2007; 48: 481-486.
10. Théon AP, Feldman EC. Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 225-231.
11. Hanson JM, Teske E, Voorhout G et al. Prognostic factors for outcome after transphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Neurosurg* 2007; 107: 830-840.
12. Fracassi F, Mandrioli L, Shehdula D, et al. Complete surgical removal of a very enlarged pituitary corticotroph adenoma in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2014; 50: 192-197.
13. Biller BMK, Grossman AB, Stewart PM, et al. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: A consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2454-2462.
14. 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; 15: 71-83.
15. Ayala A, Manzano AJ. Detection of recurrent Cushing's disease: proposal for standardized patient monitoring following transsphenoidal surgery. *J Neurocol* 2014; 119: 235-242.
16. Elson A, Bovi J, Kaur K, et al. Effect of treatment modality on the hypothalamic-pituitary function of patients treated with radiation therapy for pituitary adenomas: hypothalamic dose and endocrine outcomes. *Front Onc* 2014; 4: 73.
17. Wilson PJ, Williams JR, Smee RI. Cushing's disease: a single centre's experience using the linear accelerator (LINAC) for stereotactic radiosurgery and fractionated stereotactic radiotherapy. *J Clin Neurosci* 2014; 21: 100-106.

18. Rijnberk A, van Wess A, Mol JA. Assessment of two tests for the diagnosis of the canine hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 1988; 122: 178-180.
19. Galac S, Kooistra HS, Teske E, Rijnberk A. Urinary corticoid/creatinine ratios in the differentiation between pituitary-dependent hyperadrenocorticism and hyperadrenocorticism due to adrenocortical tumor in the dog. *Vet Q* 1997; 19: 17-20.
20. Kooistra H.S., Voorhout G., Mol J.A. et al. Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Endocrinol* 1997; 152: 387-394.
21. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, et al. Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. *Vet Surg* 1997; 26: 295-309.
22. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, et al. Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet Surg* 1998; 27: 246-261.
23. Spencer GSG, Garssen GJ, Colebrander B, Macdonald AA, Bevers MM. Glucose, growth hormone, somatomedin, cortisol and ACTH changes in the plasma of unanaesthetized pig foetus following intravenous insulin administration in utero. *Acta Endocrinol* 1983; 104: 240-245.
24. Middleton DJ, Rijnberk A, Bevers MM, et al. Some functional aspects of canine corticotrophs. *Horm Metab Res* 1987; 19: 632-635.
25. Meij BP, van den Ingh TSGAM, Mol JA, Bevers MM, Rijnberk A. Immunohistochemical staining for adrenocorticotropin, melanotropin, growth hormone, prolactin, and thyreotropin in a median sagittal section of the pituitary gland in beagle dogs. Thesis, Utrecht University. Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs, Trepico, Hooglanderveen, The Netherlands 1997a: 125-141.

26. Meij BP, van den Ingh TSGAM, Bevers MM, Hazewinkel HAW, Rijnberk A. Assessment of pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs. *Domest Anim Endocrinol* 1997b; 14: 81-97.
27. Hanson JM, Kooistra HS, Mol JA, Teske E, Meij BP. Plasma profiles of adrenocorticotrophic hormone, cortisol, α -melanocyte stimulating hormone, and growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism before and after hypophysectomy. *J Endocrinol* 2006; 190: 601-609.
28. Behrend EN. Canine hyperadrenocorticism. In: *Canine and feline endocrinology*. Fourth ed. Eds Feldman EC, Nelson RW, Reusch CE, Scott-Moncrieff JCR, Behrend. Elsevier Saunders, St Louis, Missouri, 2015: 377- 451.
29. Wood FD, Pollard RE, Uerling MN, Feldman EC. Diagnostic imaging findings and endocrine test results in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism that did or did not have neurological abnormalities: 157 cases (1989-2005). *J Am Vet Med Assoc* 2007; 231: 1081-1085.
30. Mamelak AN, Carmichael JD, Park P, et al. Atypical pituitary adenoma with malignant features. *Pituitary* 2011; 14: 92-97.
31. Scheitauer BW, Gaffey TA, Lloyd RV, et al. Pathobiology of pituitary adenoma and carcinoma. *Neurosurgery* 2006; 59: 341-353.
32. Marquez P, Mafra M, Calado C, et al. Aggressive pituitary lesion with a remarkably high ki-67. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2014; 58: 656-660.
33. Scholzen T, Gerdes J. The ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322.
34. Saleih F, Agur A, Scheithauer BW, et al. Ki-67 in pituitary neoplasm: a review- part I. *Neurosurg* 2009; 65: 429-437.
35. Van Rijn SJ, Grinwis GCM, Penning LC, Meij BP. Expression of Ki-67, PCNA, and 27kip1 in canine pituitary corticotroph adenomas. *Dom Anim Endocrinol* 2010; 38: 244-252.

36. Al-Shraim M, Asa SL. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumor: what is new? *Acta Neuropathol* 2006; 111:1-7.

6. IPOFISECTOMIA TRANSFENOIDALE NEL CANE: 8 INTERVENTI CHIRURGICI.

Del Magno S, Fracassi F, Corradini S, Foglia A, Malerba E, Joechler M, Mandrioli L, Pisoni L.

*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, via Tolara di Sopra, 50, 40064,
Ozzano dell'Emilia (BO).*

Introduzione

Le neoplasie ipofisarie sono patologie relativamente frequenti nel cane e l'ipofisectomia transfenoidale rappresenta una valida opzione terapeutica¹. Questi tumori sono solitamente rappresentati da adenomi, sporadicamente si riscontrano adenomi infiltranti e raramente si osserva la presenza di metastasi e di carcinomi². Inoltre, queste neoplasie vengono classificate in base al tipo di ormone secreto e, nel cane, la maggior parte dei tumori diagnosticati secernono ormone adrenocorticotropo (ACTH). L'incidenza di adenomi ACTH-secernenti è elevata e si suppone sia di 1-2 casi per 1000 cani, in più la sintomatologia legata all'ipercortisolismo risulta molto evidente e questo permette di raggiungere una diagnosi nella maggior parte dei casi². A volte a fianco alla secrezione di ACTH, queste neoplasie secernono anche ormone stimolante α -melanocitico (α -MSH). Neoplasie secernenti altri ormoni, quale ad esempio l'ormone somatotropo, sono rare; mentre neoplasie secernenti prolattina non sono mai state riportate in letteratura nel cane. Esistono poi neoplasie ipofisarie non ormono-secernenti, queste ultime vengono diagnosticate in caso di sintomatologia neurologica o in seguito alle deficienze ormonali che inducono per l'effetto compressivo della massa neoplastica². Un altro criterio classificativo è rappresentato dalle dimensioni del tumore. Neoplasie di grandi dimensioni, che deformano l'ipofisi, vengono definite macroadenomi, al contrario tumori di piccole dimensioni, che non alterano la morfologia della ghiandola vengono chiamati microadenomi. Nell'uomo si distingue tra micro e macroadenomi in base alle dimensioni dell'adenoma, in particolare all'altezza, poiché la crescita del tumore avviene per lo più in senso dorso-ventrale: se l'altezza della neoplasia risulta superiore a 10 mm, questa viene considerata come macroadenoma; al contrario nel caso in cui l'altezza sia inferiore a 10 mm la si ritiene un microadenoma. Nel cane, a causa della variabilità nella morfologia e nelle dimensioni del cranio, si è sentita l'esigenza di adottare dei criteri classificativi che tenessero in considerazione le dimensioni dell'encefalo. Kooistra e coll nel 1997³ hanno proposto di utilizzare il rapporto tra l'altezza della ghiandola ipofisaria e l'area dell'encefalo, misurate entrambe nella stessa scansione di

tomografia computerizzata (TC), dove la neoplasia abbia le maggiori dimensioni. Questo rapporto prende il nome di P/B (pituitary/brain) value, e la soglia per poter considerare l'ipofisi non aumentata di dimensioni o aumentata è 0.31³.

Le dimensioni della neoplasia giocano un ruolo fondamentale nella scelta terapeutica⁴. E' quindi indicato eseguire una diagnostica per immagini avanzata al fine di poter suggerire la terapia più idonea. La TC viene solitamente preferita alla risonanza magnetica nucleare (RMN) perché permette di eseguire una scansione total body (evidenzia anche le surrenali e la presenza di altre anomalie nel soggetto) e perché il chirurgo è facilitato nell'individuazione dei punti di repere necessari per eseguire l'intervento chirurgico⁵.

L'ipofisectomia transfenoidale rappresenta una terapia efficace per i tumori ipofisari. Ciò nonostante questa tecnica chirurgica viene eseguita in pochi centri veterinari al mondo, probabilmente a causa della complessa gestione perioperatoria di questi pazienti e per la necessità di una lunga curva di apprendimento per il chirurgo^{6,7}.

Lo scopo dell'ipofisectomia transfenoidale è di rimuovere completamente la neoplasia e l'ipofisi. L'intervento risulta quindi curativo sia dal punto di vista endocrinologico, nel caso di ipersecrezione ormonale, sia dal punto di vista neurologico, nel caso siano presenti sintomi neurologici. I migliori risultati sono stati riportati nei tumori di piccole dimensioni, mentre in caso di macroadenomi si sono verificate maggiori complicanze post-operatorie, persistenza dell'ipersecrezione ormonale e più frequenti recidive¹.

In caso di tumori di notevoli dimensioni, lo scopo della chirurgia è di ridurre l'effetto massa indotto dalla neoplasia, ma può rimanere necessario controllare l'eventuale ipercortisolismo farmacologicamente^{8,9}.

Inoltre le dimensioni della neoplasia ipofisaria sono un fattore prognostico negativo per le recidive, insieme allo spessore dell'osso sfenoidale, alle elevate concentrazioni di α -MSH e al rapporto tra cortisolo e creatinina urinario¹⁰.

Lo scopo di questo lavoro è di analizzare la casistica riguardante l'ipofisectomia transfenoidale di casi pervenuti presso il Dipartimenti di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna dal 2011 al 2015.

MATERIALI E METODI

Nello studio sono stati inclusi tutti i cani con neoplasia ipofisaria diagnosticati mediante diagnostica per immagini avanzata (TC o RMN), sottoposti a successivo intervento chirurgico d'ipofisectomia transfenoidale presso il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dal novembre 2011 a gennaio 2015. In ciascun soggetto è stato misurato il P/B value³.

Valutazioni preoperatorie

Prima dell'intervento chirurgico in ciascun soggetto sono stati eseguiti una visita clinica e neurologica, gli esami emato-biochimici di base, un profilo coagulativo, un esame chimico-fisico delle urine e delle radiografie del torace.

Nei soggetti nei quali dall'anamnesi e dall'esame fisico si è sospettata una disendocrinia, sono stati effettuati dei test endocrini specifici. Nei soggetti con sospetto ipercortisolismo sono stati eseguiti test di stimolazione con ACTH, test di soppressione con desametasone a basse dosi e misurazione dell'ACTH basale¹¹. Sono invece stati misurati gli ormoni tiroidei nei cani con sospetto ipotiroidismo secondario alla compressione esercitata dalla neoplasia sulla restante ghiandola².

Per i cani con PDH in terapia con trilostano, questo viene sospeso tre giorni prima della chirurgia.

Protocollo anestesiológico

Il protocollo anestesilogico è variato lievemente a seconda del paziente ed ha previsto l'utilizzo di una premedicazione con una benzodiazepina (midazolam) e un'oppioide (fentanil), l'induzione si è ottenuta mediante l'utilizzo di propofol. In seguito ad intubazione oro-tracheale, l'anestesia è stata mantenuta con isofluorano, propofol e fentanil in infusione continua. Durante l'anestesia sono stati monitorati la glicemia e gli elettroliti. Per quanto concerne la fluidoterapia, sulla base dei riscontri elettrolitici, inizialmente si è utilizzato il ringer lattato o una soluzione ipotonica quale NaCl 0.45% + glucosata 2.5% supplementata di 20 mEq/L di KCl ad una velocità di 10 ml/kg/h⁵. Una volta indotta l'anestesia sono stati posizionati un catetere venoso centrale e un catetere urinario tipo Foley.

Chirurgia

L'intervento chirurgico è stato eseguito in ciascun caso dallo stesso chirurgo (LP), secondo la tecnica descritta da Meij nel 1997⁵. L'approccio chirurgico è stato transorale, transfenoidale. Una volta posizionato il cane a bocca aperta, su una barra di sostegno (Fig.1), viene inciso il palato molle a tutto spessore e la mucosa che riveste ventralmente l'osso sfenoide.

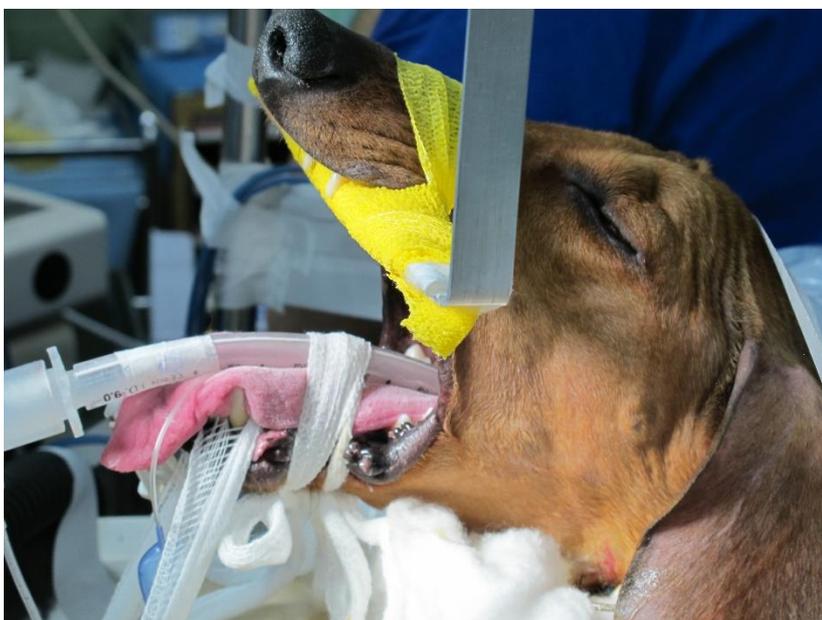


Figura 1

Caso numero 7, posizionamento per l'intervento chirurgico.

Il punto preciso d'ingresso alla fossa ipofisaria varia da soggetto a soggetto, soprattutto a seconda della morfologia del cranio (brachicefalo, dolicocefalo o mesocefalo). E' quindi necessario per il chirurgo riferirsi alla diagnostica per immagini avanzata e ai punti di repere chirurgici: i processi amulari dell'osso pterigoideo e la morfologia della superficie esocranica dell'osso sfenoide. Una volta individuato il punto d'ingresso, si fresa l'osso, fino a giungere ad un sottile strato di osso corticale, che viene solitamente rimosso con delle pinze ossivore. La dura madre, che riveste ventralmente la ghiandola ipofisaria, viene incisa con un bisturi e la ghiandola solitamente viene asportata per parti. Una volta completata l'asportazione dell'ipofisi, viene posizionata della gelatina emostatica e l'osso viene chiuso con cera per ossa. La mucosa che riveste lo sfenoide e il palato molle vengono suturati.

Periodo post-operatorio

Durante il periodo post-operatorio tutti i soggetti hanno ricevuto supplementazione ormonale con idrocortisone a 1 mg/kg ogni 6 ore, poi cortisone acetato a scalare fino a raggiungere il dosaggio di 0,25 mg/kg ogni 12 ore; tiroxina 15 µg/kg ogni 12 ore, desmopressina 1 goccia nel sacco congiuntivale ogni 8 ore, poi si è tentato di sospenderlo dopo 2-3 settimane^{5,6}. Tutti hanno ricevuto terapia antibiotica profilattica (ampicillina e sulbactam), fluidoterapia variabile in base all'emogaz e all'output urinario, gastroprotezione (omeprazolo) e analgesia con oppioidi (fentanil o metadone, poi buprenorfina o tramadolo) (Tab. 1).

Tabella 1. Terapia a cui vengono sottoposti i pazienti nell'immediato periodo post-operatorio

TERAPIA IMMEDIATO PERIODO POST-OPERATORIO	
ANTIBIOTICO	
Ampicillina e sulbactam	20 mg/kg q8h per 15 giorni

ANALGESIA	
Metadone	0.1-0.2 mg/kg q4h per 1-2 giorni
Buprenorfina	15 µg/kg q6 h per 2 giorni
Tramadolo	2 mg/kg q8 h per 7 giorni
FLUIDOTERAPIA	Durante chirurgia 10 ml/kg/h
NaCl 0.45% + 2.5% glucosata + 20 mmol/l KCl	Poi velocità di infusione viene modificata in base all'output urinario
SUPPLEMENTAZIONE ORMONALE	
Idrocortisone	1 mg/kg q6h
Poi cortisone acetato	A scalare fino 0.25 mg/kg q12 h
Desmopressina	1 goccia (circa 5 µg) nel sacco congiuntivale q8h
Tiroxina	15 µg/kg q12 h
TERAPIA ANTICOAGULANTE	
Eparina calcica	150 UI/kg q8h

In tutti i soggetti sono stati monitorati ogni 4-6 ore la temperatura, il polso, il respiro, la pressione arteriosa non invasiva, l'output urinario e il peso. E' stato eseguito lo Schirmer tear test in tutti i cani 3 giorni dopo l'intervento chirurgico. Nei soggetti con PDH è stato misurato all'induzione dell'anestesia e a 5 ore dopo la fine della chirurgia l'ACTH basale prima della somministrazione dell'idrocortisone.

L'esame istologico è stato eseguito sul tessuto asportato chirurgicamente durante l'ipofisectomia, in 3 casi è stato inoltre eseguito un esame citologico estemporaneo per impronta prima dell'asportazione completa del tessuto tumorale. E' stato poi eseguito un esame immunohistochimico al fine di valutare l'espressione del Ki67 nelle sezioni istologiche^{12,13}. Per la conta cellulare è stato impiegato il sistema *Immunoratio* (che si basa sul concetto di segmentazione utilizzato dal software Image J) che calcola

l'area dei nuclei positivi esprimendo il valore in percentuale (il dato è espresso in base all'area nucleare totale, data dalla somma dei numeri positivi e negativi).

RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi sette cani. Un soggetto è stato sottoposto a due interventi chirurgici per la comparsa di una recidiva della neoplasia ipofisaria dopo due mesi dalla prima ipofisectomia transfenoidale. La razza maggiormente rappresentata era il labrador (2/7 cani), 2 erano meticci, mentre i restanti soggetti erano rappresentati da un galgo spagnolo, un boxer e un bassotto. Il peso corporeo mediano era di 34.5 kg, con un range da 12 a 41 kg. L'età mediana era di 7.5 anni, con un range da 4 anni a 9 anni. Inoltre 6/7 cani erano maschi interi.

Dei sette pazienti inclusi, 4 presentavano PDH, due dei quali mostravano anche sintomi neurologici marcati. Un cane presentava panipopituitarismo, mentre due cani presentavano una grave sintomatologia neurologica, uno dei quali presentava inoltre ipotiroidismo. Uno dei sintomi più frequentemente riportati dai proprietari era la depressione del sensorio e l'astenia (7/7), meno frequentemente è stata osservata la compulsione (2 cani) e il calo della visione (2 cani) (Tab. 2).

Tabella 2. Nella tabella vengono riportati i dati relativi al segnalamento, ai sintomi, ai rilievi della visita clinica generale e neurologica e l'eventuale diagnosi endocrinologica per ciascun paziente. Il caso 1bis è lo stesso paziente sottoposto per la seconda volta all'intervento chirurgico.

PDH= ipercortisolismo ipofisi dipendente; pu/pd= poliuria, polidipsia; M=maschio, F=femmina, a=anni

CASI	SEGNALAMENTO	SINTOMI	VISITA CLINICA	VISITA NEUROLOGICA	DIAGNOSI ENDOCRINOLOGICA
1	Galgo spagnolo, F, 8a, 21 kg	Compulsione, ansietà, disorientamento e calo del visus, tendenza ad	Stato di nutrizione scadente, alopecia, pelo opaco, cute assottigliata,	Ritardo nella risposta alla minaccia, riflesso pupillare diretto e consensuale ritardato	PDH

		incunearsi, pu/pd	soffio cardiaco sistolico, bradicardia		
1 bis	Galgo spagnolo, F, 9a, 22 kg	Depressione del sensorio, apatia, sonnolenza, pu/pd	Abbattimento del sensorio, alopecia, cute assottigliata, soffio cardiaco sistolico, bradicardia	Risposta alla minaccia e riflesso pupillare ridotto a sinistra, propiocezione arto posteriore destro ridotto.	Recidiva PDH
2	Labrador, M, 8a, 35 kg	Disappetenza, dimagrimento, disorientamento, depressione del sensorio, tremori arti anteriori	Ipotrofia muscoli temporali, stato di nutrizione scadente, abbattimento del sensorio, pu/pd.		PANIPOPITUITARISMO
3	Meticcio, M, 6a, 34 kg	Depressione del sensorio, anteropulsione, tendenza ad incunearsi	Depressione del sensorio, disorientamento, alopecia, ipotrofia muscoli temporali	Depressione sensorio, disorientamento, compulsione, circling destro, ritardo propriocettivo arti posteriori, ritardo riflesso pupillare	IPOTIROIDISMO
4	Boxer, M, 7a, 36 kg	Pu/pd, alopecia, polifagia, astenia	Alopecia	Nella norma	PDH
5	Meticcio, M, 9a, 41 kg	Stanchezza, sonnolenza, depressione del sensorio grave, fatica a svegliarsi, disoressia	Ipotrofia muscoli temporali, bradicardia	Propriocezione ritardata a carico degli arti posteriori	/
6	Labrador, M, 4a, 35 kg	Pu/pd, ipovisione, astenia, barcollamenti, polifagia, aumento di volume addome, polipnea, alopecia	Aumento di volume dell'addome, alopecia, ipotrofia muscoli temporali, midriasi bilaterale	Assenza di risposta alla minaccia e al batuffolo di cotone, riflesso pupillare ridotto a destra	PDH
7	Bassotto, M, 6a, 12 kg	Pu/pd, diarrea, astenia, diminuzione dimensioni testicoli	Aumento di volume dell'addome, alopecia	Nella norma	PDH

Alla visita clinica è stato osservato l'ipotrofia dei muscoli temporali in 4 casi (Fig. 2) e i segni riferibili all'ipercortisolismo, quali alterazioni cutanee, aumento di volume dell'addome e pu/pd. Alla visita neurologica le alterazioni rilevate sono risultate piuttosto variabili tra ritardo alla risposta alla minaccia, riflessi pupillari rallentati e ritardi propriocettivi (Tab.2).



Figure 2

Caso numero 6, Labrador, M, 4 anni, presentato per PDH, calo della visione. Si nota l'aumento di volume dell'addome e l'ipotrofia dei muscoli temporali.

I cani con PDH (4/7) assumevano trilostano, che è stato sospeso tre giorni prima dell'intervento chirurgico, due cani assumevano tiroxina; un soggetto oltre al trilostano, assumeva anche desmopressina e atenololo per uno scarso controllo della poliuria con il solo trilostano e per una cardiopatia preesistente.

Cinque cani sono stati sottoposti a TC (Fig.3), mentre il cane che è stato operato due volte è stato sottoposto a RMN prima di entrambe le chirurgie e anche un altro paziente ha eseguito la RMN (Fig.4).

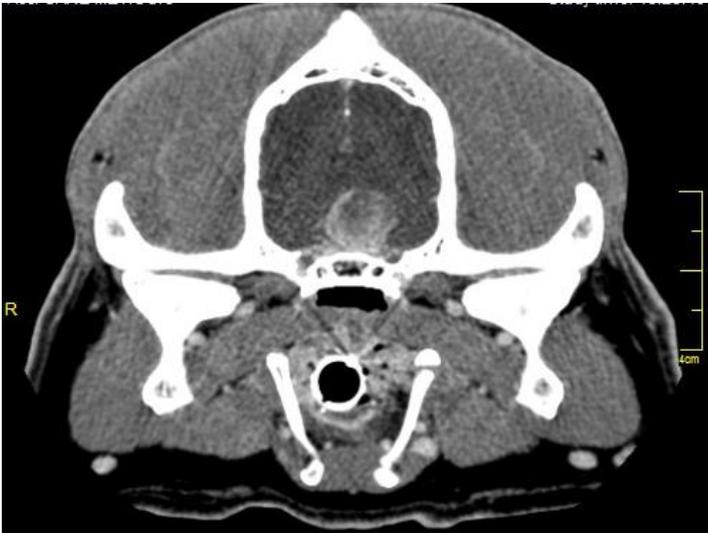


Figura 3

Immagine TC dopo somministrazione di mezzo di contrasto del caso numero 5, cane meticcio, M, 9 anni con sintomatologia neurologica caratterizzata da depressione e sonnolenza. P/B 0,8, con presa di contrasto moderatamente disomogeneo.

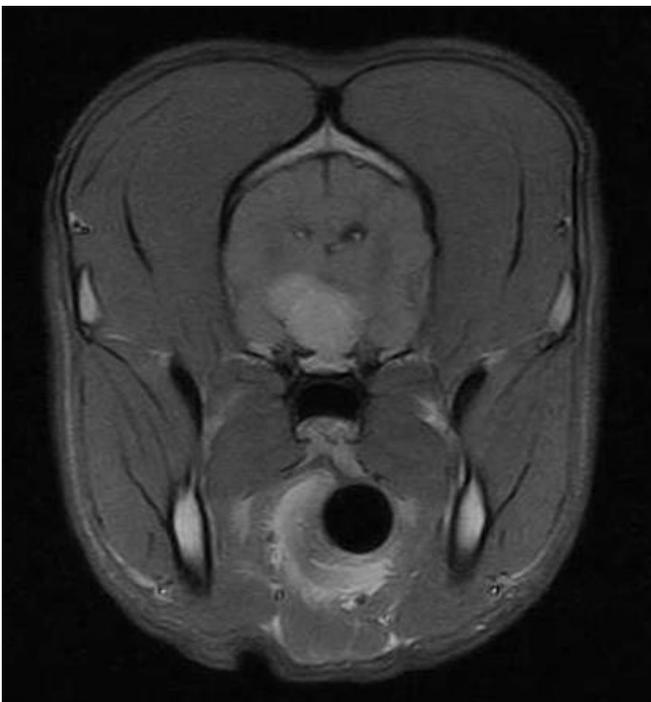


Figura 4

Immagine di RMN in sezione trasversa, pesata in T1, dopo somministrazione di mezzo di contrasto paramagnetico. Si osserva la presenza di una neof ormazione asimmetrica in partenza dalla fossa ipofisaria. Caso numero 3, meticcio, M, 6 a, presentato per sintomatologia neurologica caratterizzata da compulsione. P/B value di 0,8, si nota un'assimetria della neoplasia verso destra.

Tutti i soggetti presentavano un macroadenoma ipofisario, con un P/B value che variava da 0.48 a 1.28, mediana 0,8 e un'altezza che andava da 8 mm a 18 mm, mediana 15.5 mm (Tab.3).

Tabella 3 Nella tabella viene riportata la metodica di diagnostica per immagini avanzata eseguita in ogni soggetto, il pituitary/brain value (P/B value), l'altezza dell'ipofisi e le caratteristiche morfologiche delle neoplasie

caso n°	diagnostica per immagini	p/b value	altezza ipofisi	caratteristiche neoplasia
1	MRI	1.28	16 mm	Irregolare
1 bis	MRI	0.6	11,9mm	Irregolare e asimmetrica
2	CT	1	18 mm	Irregolare
3	CT	0.8	17 mm	Irregolare
4	CT	0.61	12 mm	Margini netti
5	CT	0.8	17,7mm	Margini netti
6	CT	0.9	15mm	Irregolare
7	CT	0.48	8 mm	Margini netti

Nel primo soggetto sottoposto ad ipofisectomia l'entrata all'interno della cavità cranica non è avvenuta in corrispondenza della fossa ipofisaria, ma più caudalmente. Non si sono verificate complicazioni conseguenti all'errato ingresso attraverso l'osso sfenoidale. L'altra complicazione verificatasi durante l'intervento chirurgico è stato il sanguinamento probabilmente dal seno intercavernoso rostrale in un paziente.

L'esame citologico ha confermato in tutti e tre i casi in cui è stato eseguito la presenza di tessuto neoplastico compatibile con l'origine della ghiandola pituitaria.

Nel periodo post-operatorio le complicazioni sono state numerose: in 5 casi su 8 interventi eseguiti si è verificato ipernatremia e ipertensione, in 4 casi la sintomatologia neurologica già presente si è esacerbata, in particolare due cani hanno presentato una profonda depressione del sensorio, uno stato quasi stuporoso e marcata sonnolenza; in due casi si è verificato ipertermia e, sempre in due casi si è verificato esoftalmo. In due soggetti il risveglio è stato particolarmente agitato e ha richiesto una sedazione. In due pazienti sono stati diagnosticati trombi insorti nel periodo post-operatorio. Un trombo è stato rinvenuto a carico della vena splenica nel caso numero 5, che presentava macroadenoma ipofisario che determinava sintomatologia neurologica, ma non PDH. Mentre il secondo caso (caso numero 6) ha sviluppato un altro trombo a livello della vena giugulare sinistra che si estendeva fino alla vena cava craniale, dove era presente il catetere venoso centrale. Questo cane presentava PDH e una grave proteinuria. In entrambi i casi gli adenomi erano di grandi dimensioni e determinavano una sintomatologia neurologica ben evidente: in un caso era presente grave sonnolenza e depressione del sensorio, nell'altro diminuzione della capacità visiva. Inoltre entrambi erano cani di grossa taglia, che tendevano al decubito e che faticavano a muoversi. In un solo caso è stata rilevata cheratocongiuntivite secca con lo sviluppo di ulcere (Tab. 4). In due casi (casi numero 5 e 6) la desmopressina per via oculo-congiuntivale non permetteva di controllare la poliuria post-operatoria, si è quindi deciso di somministrarla per via sottocutanea, ottenendo dei risultati più marcati. Il caso numero 1, in seguito al secondo intervento, e nel caso 5 si è verificata ipertermia. Nel primo soggetto questa alterazione è perdurata per 8 giorni.

Tabella 4 Nella tabella vengono elencate le complicazioni post-operatorie, i giorni di ricovero, la sopravvivenza, il follow up e gli eventuali fattori prognostici sfavorevoli per le recidive e la sopravvivenza rispetto a quelli individuati da Hanson e coll nel 2007¹.

PDH= ipercortisolismo ipofisi dipendente; ACTH= ormone adrenocorticotropo; UCCR= rapporto tra cortisolo e creatinina urinario.

caso n°	complicazioni	giorni ricovero	sopravvivenza post-operatoria	follow-up	fattori prognostici negativi per recidiva e sopravvivenza¹
1	Esoftalmo, aumento volume masseteri, ipertensione, bradicardia, fluttuazioni natremia, ipertensione	5	Dimesso	Recidiva dopo 2 mesi	Macroadenoma, notevoli dimensioni
1 bis	Agitazione, ipertermia, deficit neurologici, ipernatremia, ipertensione	10	Dimesso	Recidiva, soppresso dopo	Recidiva
2	Tachicardia, polipnea/dispnea, ipotensione	1	Deceduto		Macroadenoma di forma irregolare e molto grande
3	Bradycardia, sintomatologia neurologica, iponatremia, esoftalmo, ulcere corneali, cheratocongiuntivite secca	15	Soppresso		Macroadenoma molto grande, forma irregolare
4	Ipernatremia	8	Dimesso	Recidiva della patologia, soppresso dopo 5 mesi dall'intervento	ACTH elevato, UCCR elevato
5	Sintomatologia neurologica, intensa poliuria,	19	Soppresso		

	ipernatremia, ipertermia, trombosi, ipertensione				
6	Sintomatologia neurologica, trombosi, sospetto aumento della pressione intracranica, ipertensione	14	Soppresso		ACTH elevato, Dimensioni macroadenoma
7	Agitazione al risveglio, ipertensione, ipernatremia	5	Dimesso		ACTH elevato

1. Hanson JM, Teske E, Voorhout G, Galac S, Kooistra HS, Meij BP. Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. J Neurosurg 2007; 107: 830-840.

Quattro cani sono stati dimessi, mentre uno è deceduto nell'arco delle prime dodici ore post-operatorie. Tre soggetti sono stati soppressi su richiesta del proprietario a causa del mancato miglioramento clinico e in un caso per il peggioramento delle condizioni cliniche. I cani che sono stati dimessi sono stati ricoverati per un periodo che andava dai 5 ai 10 giorni. Mentre i cani soppressi sono rimasti ricoverati dai 14 ai 19 giorni (Tab. 4). Il cane deceduto ha presentato subito dopo l'introduzione del catetere urinario piuria. L'animale è stato stabile durante l'anestesia, ma ha presentato uno scompenso probabilmente legato ad una diffusione dell'infezione ed a una sepsi. Alla necropsia erano presenti petecchie a livello della mucosa vescicale, cardiomiopatia ipertrofica e edema polmonare (Fig.5).



Figura 5

Immagine necroscopica della vescica di un caso numero 2, Labrador, M, 8 a, presentato per panipopituitarismo e deceduto nel post-operatorio dopo ipofisectomia transfenoidale. Sono evidenti le strie emorragiche a livello della mucosa vescicale.

La mortalità post-peratoria, considerando 8 interventi chirurgici, poiché il primo paziente è stato sottoposto a due interventi d'ipofisectomia transfenoidale, è stata del 50%.

Sono state eseguite tre necroscopie e l'esame macroscopico ed istologico del solo encefalo del caso numero 2, poiché il proprietario ha acconsentito solo a questa procedura. Macroscopicamente era presente ancora abbondante materiale neoplastico in corrispondenza dell'ipofisi di un colore viola scuro di notevoli dimensioni. Era evidente la zona in cui il chirurgo aveva lavorato per asportare il tumore, ma ne era rimasto una buona parte di questo in situ (Fig. 6).

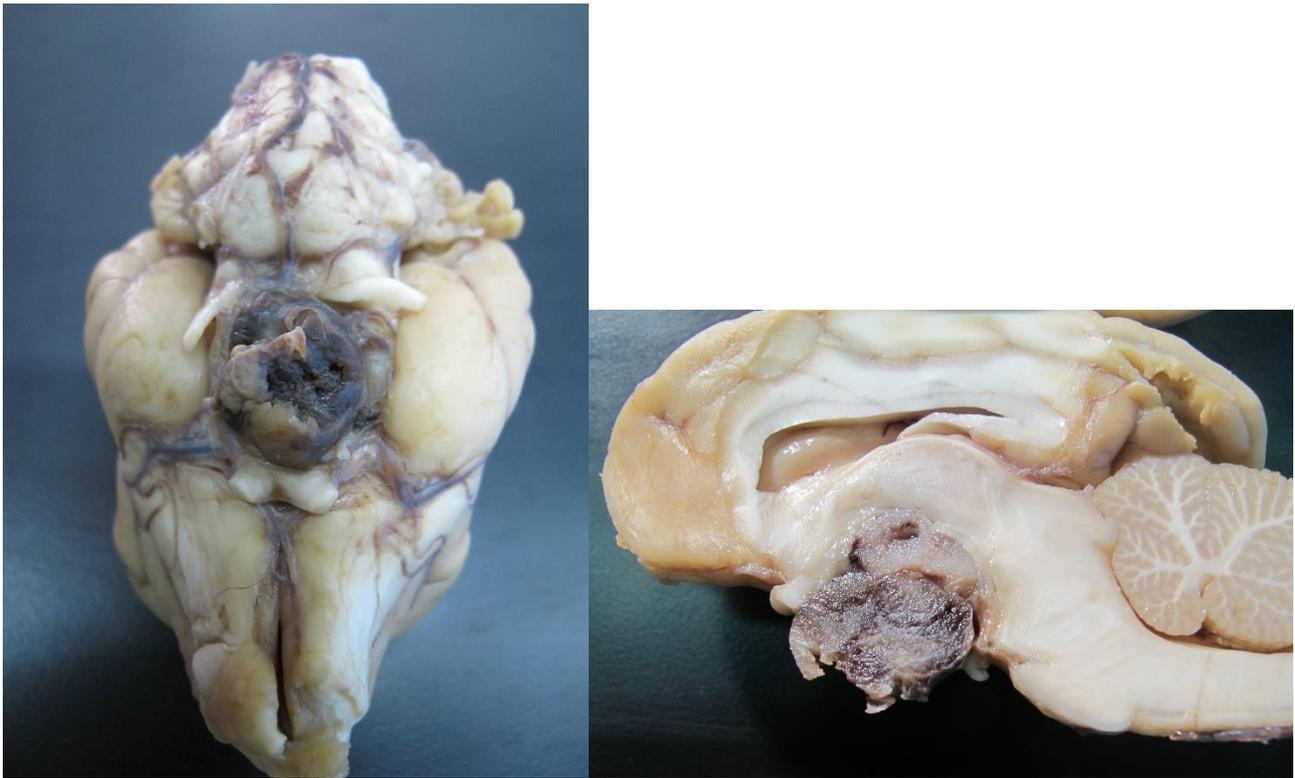


Figura 6

Encefalo fissato in formalina in seguito ad asportazione, visione ventrale e dopo sezione longitudinale, caso numero 2, meticcio, M, 6 a, presentato per sintomatologia neurologica. Il cane è stato soppresso per mancanza di miglioramento clinico dopo l'intervento chirurgico. Dai preparati si osserva la persistenza di abbondante tessuto neoplastico.

Nel cane con trombosi della vena splenica (caso numero 5), la regione ipofisaria risultava libera da neoplasia, ma erano presenti a livello encefalico delle aree multifocali di malacia.

Il cane che ha presentato trombosi a carico della vena giugulare e della vena cava craniale (caso numero 6) (Fig. 7) erano invece presenti delle aree multifocali di emorragia e trombosi dei vasi encefalici (Fig.8). Era inoltre presente tessuto neoplastico nella porzione più craniale della fossa ipofisaria che deformava il chiasma ottico. All'esame istologico era evidente infiltrazione locale del tessuto encefalico circostante (Tab. 5). Questa neoplasia appariva di forma irregolare alla TC e può essere definita un adenoma infiltrante. A livello epatico era presente una notevole congestione dei capillari sinusoidali; inoltre, a livello renale era presente una sindrome nefrosica caratterizzata dalla presenza di materiale proteinaceo nello spazio della capsula di Bowmann.

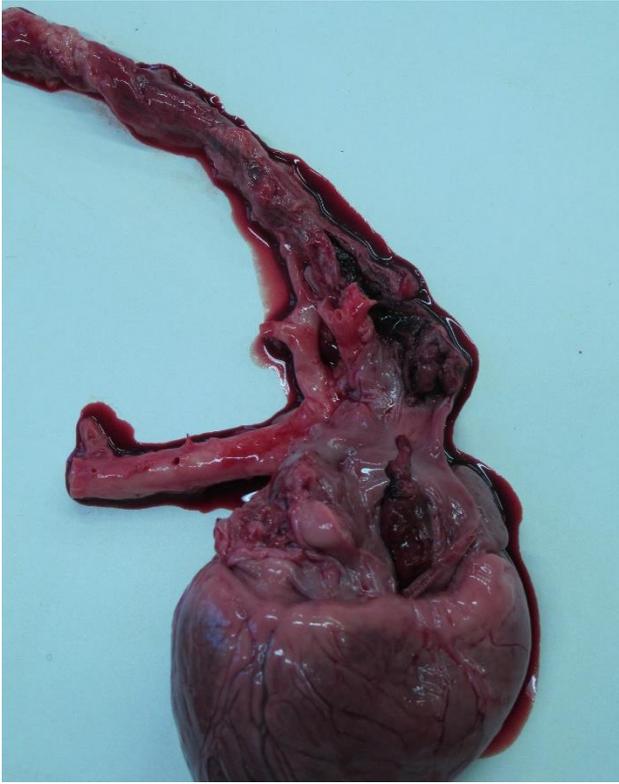


Figura 7

Immagine necroscopica del caso numero 6 Labrador, M, 6a. E' evidente la trombosi presente a livello di vena giugulare, vena cava craniale fino all'ingresso dell'atrio destro.

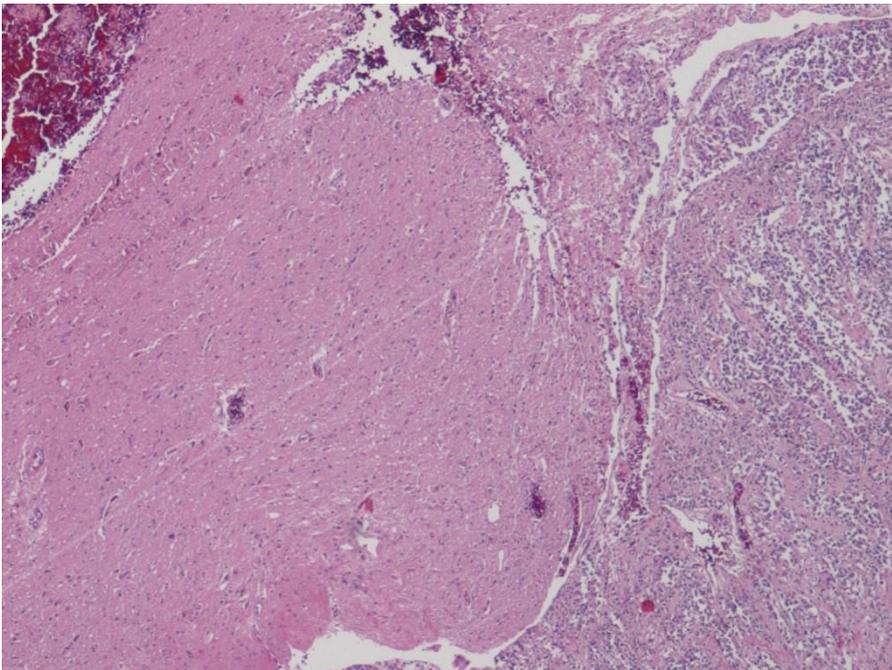


Figura 8

Caso numero 6. Encefalo e ipofisi. Istologia. A destra si nota la presenza di tessuto ipofisario proliferato adiacente al parenchima cerebrale (sinistra). Ematossilina, eosina, 4x.

Tabella 5 In questa tabella si elenca la diagnosi istologica, il Ki-67 labeling index e i rilievi macroscopici e microscopici delle necrosco pie.

CASO	DIAGNOSI ISTOLOGICA	Ki-67 labeling index	eventuale necroscopia
1	Adenoma ipofisario	11,6	Non eseguita
2	Adenoma ipofisario	11,5	Assenza di tessuto ipofisario residuo, emorragie vescica, pielectasia
3	Adenoma ipofisario	29,9	Asportazione parziale ipofisi
4	Adenoma ipofisario	17,1	Non eseguita
5	Adenoma ipofisario	12,8	Asportazione completa ipofisi, encefalomalacia multifocale, trombosi v. splenica
6	Adenoma ipofisario	3,4	Asportazione parziale ipofisi con aspetti di ivasione locale, trombosi vena giugulare e vena cava craniale
7	Adenoma ipofisario	13	Non eseguita

Nei cani con PDH, trattati con l'ipofisectomia, l'ACTH è diminuito in tutti i casi nell'immediato periodo post-operatorio. In due casi si è osservata una diminuzione fino a valori prossimi allo zero, mentre in due casi si è verificata una diminuzione non altrettanto sostanziale e in un soggetto non è disponibile la misurazione post-operatoria (Tab.6).

Tabella 6. Valori di ormone adrenocorticotropo (ACTH) all'induzione dell'anestesia e dopo 5 ore dalla fine dell'intervento chirurgico prima della somministrazione di corticosteroidi.

CASI con pdh	ACTH PRE-OP	ACTH POST-OP
1	350 pg/ml	100 pg/ml
5	130 pg/ml	12,3 pg/ml

7	195 pg/ml	
8	138 pg/ml	9 pg/ml

Negli 8 casi, l'esame istologico eseguito sul tessuto asportato chirurgicamente ha evidenziato la benignità delle neoplasie, che sono state classificate come adenoma e originante dalla porzione adenoipofisaria (Tab. 6).

Il cane sottoposto due volte ad intervento chirurgico ha presentato recidiva la prima volta a distanza di due mesi dall'intervento; mentre la seconda dopo circa 4-5 mesi. Questo cane è morto dopo 2.5 anni dal primo intervento chirurgico. Uno dei due cani dimessi dopo l'intervento è vivo (caso numero 7) e in remissione al momento della stesura del presente lavoro, mentre l'altro (caso numero 4) è stato soppresso dopo 5 mesi dalla dimissione per recidiva dell'ipercortisolismo e aggravamento della condizione cardiaca (Tab. 4).

La valutazione del Ki67 ha riportato esiti variabili con una mediana di 12.2, e un range tra 3.4 e 29.9. L'animale con il ki67 più basso era il cane che presentava l'adenoma infiltrante (Tab. 6).

DISCUSSIONI

L'ipofisectomia transfenoidale rappresenta una valida opzione nella terapia dei macroadenomi ipofisari, tuttavia in veterinaria è una chirurgia poco diffusa¹. Al contrario nell'uomo l'asportazione chirurgica della neoplasia ipofisaria rappresenta il trattamento d'elezione in caso di malattia di Cushing o nel caso di sintomi neurologici¹⁴. La radioterapia, la terapia medica e il reintervento rappresentano delle possibili soluzioni in caso di mancato successo della chirurgia¹⁴.

La terapia medica ha il solo scopo di ridurre la sintomatologia causata dall'eccesso di cortisolo, ma non ha alcun effetto diretto sulla neoplasia. Al contrario è possibile che riducendo gli elevati livelli di cortisolo circolanti, si riduca il feed-back negativo a livello ipofisario e la neoplasia possa

espandersi più velocemente. Questo effetto conseguente alla riduzione del cortisolo circolante, è noto nell'uomo come sindrome di Nelson¹⁵ ed è stata descritta in seguito a surrenalectomie bilaterali per la terapia del PDH. Nel cane non ci sono lavori condotti su soggetti con malattia di Cushing, ma sperimentalmente è stato somministrato trilostano a cani sani e si è osservato un aumento di dimensioni dell'ipofisi, si pensa per lo stesso meccanismo¹⁶.

La radioterapia è un'opportunità nella terapia dei macroadenomi, ma pochi casi sono descritti in letteratura¹⁷⁻²⁰. Si ritiene che sia necessario tempo, anche fino a sei mesi, dopo l'irradiazione affinché si verifichi il massimo effetto nella riduzione delle dimensioni della massa ipofisaria. Nonostante ciò alcuni miglioramenti nella sintomatologia si verificano già dopo circa un mese dalla terapia radiante. L'ipercortisolismo raramente regredisce e nonostante la riduzione delle dimensioni nella neoplasia, è necessario continuare a trattare farmacologicamente l'ipercortisolismo con il trilostano o farmaci analoghi. I risultati sono peggiori in caso di neoplasie che determinano una sintomatologia neurologica grave¹⁷.

Il presente lavoro vuole riportare l'esperienza di ipofisectomia transfenoidale in 7 cani/8 interventi chirurgici eseguiti presso la stessa struttura in Italia.

Nei casi riportati, tre RMN sono state eseguite in fase pre-operatoria, mentre gli altri 5 casi sono stati sottoposti a TC. La tomografia computerizzata è da preferirsi prima dell'intervento d'ipofisectomia, perché fornisce maggiori dettagli ossei, rispetto alla RMN. Auriemma e coll²¹ hanno comparato il P/B value ottenuto con RMN vs TC e i risultati assoluti sono risultati variabili, mentre il loro rapporto è stato paragonabile.

Durante l'intervento chirurgico le maggiori difficoltà sono state la localizzazione del punto in cui accedere all'osso sfenoidale e apprezzare l'eventuale persistenza di tessuto neoplastico all'interno della fossa ipofisaria. Per quanto riguarda la localizzazione, nonostante i punti di repere descritti in letteratura⁵, è fondamentale tenere in considerazione l'inclinazione del cranio del cane. La precisa localizzazione è un problema sentito anche da altri autori e chirurghi, ed è stata appositamente

proposta una variante alla tecnica descritta da Meij⁵: prima di accedere alla fossa ipofisaria vengono creati dei fori a spessore parziale nell'osso sfenoidale e viene eseguita una TC per avere la certezza che i fori si trovino esattamente in corrispondenza dell'ipofisi⁷. Nella struttura in cui sono stati eseguiti gli interventi non è disponibile al momento una TC, si è quindi ovviato al problema prelevando inizialmente delle piccole porzioni di tessuto che il chirurgo riteneva neoplastico ed è stato eseguito un esame citologico intraoperatorio finalizzato ad identificarne la pertinenza ipofisaria.

Lo spessore dello sfenoide rappresenta un fattore prognostico negativo per le recidive, poiché maggiore è lo spessore dell'osso, più è difficile per il chirurgo visualizzare il tessuto neoplastico¹⁰. Per migliorare l'ispezione della fossa ipofisaria, una volta che il chirurgo ritenga di aver rimosso tutto il tessuto neoplastico, è possibile inserire un endoscopio di piccole dimensioni nella via d'accesso chirurgica ed individuare eventuali porzioni di tessuto rimasti. Purtroppo nel caso numero 4 recidivato dopo la chirurgia e soppresso dopo 5 mesi dall'intervento, lo spessore dell'osso sfenoidale superava il centimetro e questo non ha facilitato l'ispezione e l'asportazione della neoplasia.

Un altro fattore fondamentale durante l'intervento chirurgico è comprendere e apprezzare quanto tessuto rimuovere, cercando di non irritare i tessuti circostanti. E' riportato in letteratura che dopo l'asportazione completa dell'ipofisi, la superficie ventrale dell'ipotalamo appare bene evidente e biancastra⁵. Nei casi del presente lavoro, il chirurgo ha riscontrato una differenza strutturale tra macroadenomi di grandi dimensioni e i macroadenomi con dimensioni inferiori. Nei primi il tessuto è frequentemente organizzato, mentre nei macroadenomi di dimensioni più contenute, il tessuto appare di colore rosato, gelatinoso in consistenza. Questa differenza era già stata riportata in letteratura ed è nota una maggiore difficoltà nell'asportare tumori di grandi dimensioni sia per la diversa consistenza che per le dimensioni del foro di accesso alla fossa ipofisaria⁷.

Nessuna complicazione maggiore si è verificata durante la chirurgia, mentre diverse complicazioni si sono verificate nel periodo post-operatorio. Il sanguinamento è ritenuto essere la più importante complicazione intraoperatoria; attorno all'ipofisi è presente infatti una ricca vascolarizzazione, per

cui un ingresso all'interno della fossa ipofisaria lievemente laterale o spostata cranio-caudalmente può determinare la rottura di qualche vaso^{6,7}.

L'unico cane deceduto spontaneamente nel periodo post-operatorio (caso numero 2) era in terapia per il panipopituitarismo e ha sviluppato una sepsi durante l'intervento chirurgico. Vista la possibile immunodepressione presente in questi soggetti, è stato in seguito aggiunto al protocollo di screening preoperatorio, l'esame batteriologico delle urine e l'inizio della terapia antibiotica il giorno prima della chirurgia.

Tutti i rimanenti cani sono sopravvissuti all'intervento, tuttavia tre di questi non hanno mostrato alcun miglioramento clinico, al contrario hanno presentato delle ulteriori complicazioni: due cani hanno presentato trombosi e un cane ha mostrato dei gravi sintomi neurologici.

Per quanto riguarda i due casi che hanno sviluppato trombosi nel periodo post-operatorio è presumibile che lo scarso movimento associato alla somministrazione di elevati dosaggi di corticosteroidi in cani di grossa taglia, siano fattori associati ad un più elevato rischio di trombosi, soprattutto in soggetti che hanno subito una chirurgia maggiore. La persistenza del catetere venoso centrale ha inoltre fornito uno stimolo ulteriore alla creazione del trombo. Dopo lo sviluppo del trombo a carico della vena splenica, è stato introdotto nel protocollo post-operatorio l'utilizzo di eparina a scopo profilattico. Nonostante questa terapia profilattica nel secondo caso si è verificata comunque una trombosi.

L'ipernatremia si è verificata frequentemente in seguito alla carenza dell'ormone antidiuretico (ADH) conseguente all'asportazione della neuroipofisi^{1,6}. Nonostante la supplementazione con desmopressina, un analogo sintetico della vasopressina, era presente, nella maggior parte dei casi, poliuria e la tendenza all'aumento del sodio sierico. La ridotta efficacia della desmopressina a livello renale poteva essere causata dall'azione dei corticosteroidi che inibiscono l'analogo dell'ADH¹. Si è inoltre notato che in certi cani la via di somministrazione oculo-congiuntivale non era efficace, mentre la via sottocutanea portava dei risultati migliori e più duraturi. Dei cani dimessi solo in un soggetto è

stato possibile sospendere la somministrazione di desmopressina senza ricomparsa di poliuria e polidipsia. Inoltre l'ipernatremia si è presentata più marcata nei cani che presentavano uno stato del sensorio peggiore e non erano autosufficienti per l'alimentazione e l'assunzione di acqua. In questi pazienti era infatti necessario seguire in maniera molto intensiva le perdite fluide per contrastarle con la fluidoterapia. Questi soggetti presentavano dimensioni della neoplasia notevoli. I soggetti che hanno recuperato le grandi funzioni organiche più velocemente hanno, al contrario, avuto un ricovero più breve e si autoregolavano con l'acqua assunta per via orale. Questi pazienti presentavano un P/B di 0.48 e 0.61 e non presentavano deficit neurologici. E' quindi ipotizzabile che nei macroadenomi di dimensioni più contenute c'è la tendenza ad un periodo post-operatorio più breve e con complicazioni meno gravi.

L'ipertermia si è sviluppata in due casi con tumori di grandi dimensioni, e sembra essere conseguente a fenomeni irritativi a carico dei nuclei della termoregolazione ipotalamici. Infatti nel caso tumori di grandi dimensioni il chirurgo è obbligato ad intervenire dorsalmente verso l'ipotalamo. Durante l'ipertermia è necessario raffreddare attivamente il paziente, poiché sono necessari circa 3-4 giorni per ottenere la regressione della sintomatologia. In uno dei casi del presente lavoro, l'ipertermia si è protratta per 8 giorni.

La cheratocongiuntivite secca, riportata piuttosto frequentemente in letteratura¹, si è verificata in un caso che ha sviluppato dopo l'intervento chirurgico esoftalmo. In seguito alla ridotta produzione lacrimale e alla maggior esposizione del globo oculare all'aria, si sono verificate due ulcere corneali centrali, trattate con terapia topica a base di lacrime artificiali, antibiotico locale e acetil-cisteina.

Le necrosopie sono state particolarmente utili dopo la soppressione degli animali per poter comprendere eventuali alterazioni macro e microscopiche dell'encefalo e del resto dell'organismo. In due casi il tumore ipofisario permaneva in parte all'interno del suo sito, indicando un'asportazione parziale della neoplasia. Mentre in altri due soggetti, un morto e l'altro soppresso, la fossa ipofisaria appariva vuota. In particolare, un cane presentava tessuto ipofisario neoplastico residuo dopo la

chirurgia nella porzione più craniale della fossa ipofisaria, dove determinava un'alterazione al chiasma ottico e di conseguenza alla visione. L'esame istologico dell'encefalo ha mostrato una infiltrazione lieve del tessuto cerebrale circostante. Questa neoplasia appariva di forma irregolare alla TC e poteva essere definita un adenoma infiltrante. Accanto a questo comportamento maligno della neoplasia, erano presenti a livello encefalico aree di emorragia e congestione. Un quadro simile era visibile a livello epatico. A livello renale era inoltre presente una sindrome nefrosica, che può aver aggravato la proteinuria e facilitato l'insorgenza della trombosi. In questo caso la chirurgia è risultata particolarmente difficile per l'infiltrazione del tessuto circostante e probabilmente questo tipo di neoplasia è da considerarsi asportabile solo parzialmente o non operabile.

La necropsia del soggetto soppresso per trombosi della vena splenica, non ha mostrato persistenza di tessuto tumorale a livello ipofisario, ma erano presenti numerosi focolai malacici. In entrambi questi soggetti, lo stato di alterata coagulabilità può aver determinato le principali alterazioni del tessuto nervoso.

Nonostante tutte le neoplasie asportate siano risultate classificabili come adenomi dal punto di vista istologico, alcune presentavano delle caratteristiche di maggiore aggressività da un punto di vista biologico. Con l'esame immunostochimico Ki67 labeling index si è tentato di ottenere possibili informazioni riguardo al tasso di proliferazione delle neoplasie, nonostante in medicina veterinaria questo indice di proliferazione non sembra dare informazioni utili negli adenomi ipofisari "enlarged" vs "non enlarged"^{22,23}. Nell'uomo questo marcatore sembra risultare utile per comprendere la maggiore aggressività da parte di alcune neoplasie, poiché sia nell'uomo sia nel cane non sono chiari i criteri di valutazione istologica per i tumori che si comportano in modo atipico^{12,13}. Questo marker è già utilizzato in medicina umana e sembra aver dato dei risultati incoraggianti, tuttavia in medicina veterinaria alcuni lavori confutano la sua utilità. Nei nostri soggetti i valori percentuali riguardo al Ki-67 sono risultati particolarmente elevati, tranne per il caso 7, che presentava un adenoma

infiltrante e un valore di Ki-67 di 3,4%. Ulteriori studi sono necessari per stabilire eventuali utilità nell'individuare i tumori con un comportamento maggiormente aggressivo.

Hanson e colleghi¹⁰ hanno analizzato i fattori prognostici legati alle recidive e alla sopravvivenza in seguito ad ipofisectomia transfenoidale. Per quanto riguarda le recidive sono stati individuati le dimensioni della neoplasia, gli elevati valori di UCCR prima della chirurgia, di α -MSH, e lo spessore dell'osso sfenoide, poiché uno spessore notevole crea un impedimento al chirurgo alla visione della fossa ipofisaria. Nei soggetti del presente lavoro la maggior parte era di taglia grande con uno spessore dell'osso sfenoide notevole. Inoltre i parametri di UCCR post-operatori e l' α -MSH sembrano essere correlati con una maggiore aggressività del tumore e quindi con una maggior incidenza di recidive. L' α -MSH purtroppo non viene misurata presso la struttura di chi scrive. Per quanto riguarda l'UCCR i valori non sono disponibili perché nella maggior parte dei soggetti sono stati preferiti altri test per la diagnosi di PDH. Mentre le dimensioni delle neoplasie nel presente lavoro sono state notevoli e numerose sono state anche le complicazioni.

Per quanto riguarda la sopravvivenza l'età avanzata, le dimensioni del tumore e gli elevati livelli di ACTH sono tutti correlati negativamente con la sopravvivenza¹⁰. L'età mediana dei nostri casi risulta lievemente più bassa rispetto a quella dei casi riportati da Hanson e colleghi nel 2007¹⁰. Il peso invece risulta maggiore, così come l'altezza mediana delle neoplasie ipofisarie (15.5 mm) e il P/B value (0.8) rispetto al lavoro di Hanson (rispettivamente altezza mediana ipofisi 5.4 mm e P/B value 0.33). Anche i livelli di ACTH basali dei cani affetti da PDH, prima della chirurgia erano molto elevati e questi sono stati correlati con una minor sopravvivenza all'intervento. Emerge quindi che le dimensioni delle neoplasie nei soggetti del presente lavoro siano notevolmente maggiori rispetto alla mediana dei casi in letteratura. Ciò potrebbe spiegare la maggiore mortalità nel presente lavoro rispetto a quella riportata da Hanson¹⁰ nel periodo perioperatorio. Un tasso di mortalità simile nel periodo post-operatorio è stata riportata da Mamelak⁷ e Meij⁶ nei primi cani sottoposti ad intervento chirurgico. La mortalità è poi scesa nei successivi casi affrontati. L'aumento del successo dell'intervento chirurgico

e della gestione post-operatoria con l'acquisizione di maggiore esperienza, sottolinea la necessità di una curva di apprendimento sia per il chirurgo, sia per i medici che seguono il periodo post-operatorio. Viste le notevoli dimensioni dei primi 8 casi affrontati, le complicazioni e il tasso di successo possono essere ritenute ragionevoli nel presente lavoro. Inoltre i soggetti con dimensioni dei macroadenomi più contenute hanno avuto meno complicazioni e periodi di ricovero più brevi. Si ritiene quindi che nel caso di neoplasie di notevoli dimensioni ci si possa aspettare complicazioni più rilevanti e un tasso di successo inferiore, ciò nonostante la chirurgia può aiutare nel ridurre le dimensioni della neoplasia e potrebbe essere associata eventualmente alla radioterapia, se la ripresa dell'animale è buona dopo l'intervento. Mentre nei tumori di dimensioni più piccole ci si aspetta un possibile effetto curativo dell'intervento sia per dal punto di vista endocrinologico, in caso di PDH, che neurologico, ed un minor tasso di complicazioni.

Bibliografia

1. Hanson JM, van't Hoofd MM, Voorhout G, Teske E, Kooistra HS, Meij BP. Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19: 687-694, 2005.
2. Meij BP, Kooistra HS, Rijnberk A: Hypothalamus-pituitary system. In RijnberkA, Kooistra HS (Eds) *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats. An Illustrated Text*. Schlutersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover, pp 13-54, 2010.
3. Kooistra HS, Voorhout G, Mol JA, Rijnberk A. Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Endocrinology* 152: 387-394, 1997.
4. Kooistra HS, Galac S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* 27: 21-24, 2012.
5. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, Hazewinkel HAW, van't Verlaat JW. Transsphenoidal hypophysectomy in beagle dogs: evaluation of a microsurgical technique. *Veterinary Surgery* 26: 295-309, 1997.
6. Meij BP, Voorhout G, van den Ingh TSGAM, Hazewinkel HAW, Teske E, Rijnberk A. Results of transsphenoidal hypophysectomy in 52 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Veterinary Surgery* 27: 246-261, 1998.

7. Mamelak AN, Owen TJ, Bruyette D. Transsphenoidal surgery using a high definition video telescope for pituitary adenomas in dogs with pituitary dependent hypercortisolism: methods and results. *Veterinary Surgery* 43: 369-379, 2014.
8. Fracassi F, Mandrioli L, Shehdula D, Diana A, Grinwis GCM, Meij BP. Complete surgical removal of a very enlarged pituitary corticotroph adenoma in a dog. *American Animal Hospital Association* 50: 192-197, 2014.
9. Pisoni L, Del Magno S, Lotti D, Mandrioli L, Zagnoli L, Bresciani F, Corradini S, Cloriti E, Joechler M, Cinti F, Fracassi F. Ipofisectomia transfenoidale in un cane con ipercortisolismo e sintomi neurologici secondari a macroadenoma ipofisario. *Veterinaria*, 26: 25-35.
10. Hanson JM, Teske E, Voorhout G, Galac S, Kooistra HS, Meij BP. Prognostic factors for outcome after transphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Neurosurgery*; 107: 830-840, 2007.
11. Behrend EN. Canine hyperadrenocorticism. In: *Canine and feline endocrinology*. Fourth ed. Eds Feldman EC, Nelson RW, Reusch CE, Scott-Moncrieff JCR, Behrend. Elsevier Saunders, St Louis, Missouri, 2015: 377- 451.
12. Mamelak AN, Carmichael JD, Park P, Bannykh S, Fan X, Bonert HV. Atypical pituitary adenoma with malignant features. *Pituitary* 14: 92-97, 2011.
13. Al-Shraim M, Asa SL. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumors: what is new? *Acta Neuropathology* 111: 1-7, 2006.
14. Biller BM, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, Buchfelder M, Colao A, Hermus AL, Hofland LJ, Kilbanski A, Lacroix A, Lindsay JR, Newell-Price J, Nieman LK, Petersenn S, Sonino N, Stalla GK, Swearingen B, Vance ML, Wass JA, Boscaro M. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93: 2454-2462, 2008.
15. Azad T, Veeravagu A, Kumar S, Katznelson L. Nelson syndrome- Update on therapeutic approaches. *World Neurosurgery*, doi 10. 1016/j.wneu.2015.01.038, 2015.
16. Teshima T, Hara Y, Takekoshi S, Nezu Y, Harada Y, Yogo T, Teramoto A, Osamura RY, Tagawa M. Trilostane-induced inhibition of cortisol secretion results in reduced negative feed-back at the hypothalamic-pituitary axis. *Domestic Animal Endocrinology* 36: 32-44, 2009.
17. Theon AP, Feldman AC. Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 15: 225-231, 1998.

18. Kent MS, Bommarito D, Feldman E, Theon AP. Survival, neurologic response, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2007; 21: 1027-1033.
19. De Fornel P, Delisle F, Devauchelle P, Rosenberg D. Effect of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumor in dogs: a retrospective study of 12 cases. *Canadian Veterinary Journal* 2007; 48: 481-486.
20. Mayer MN, Treuil PL. Radiation therapy for pituitary tumors in the dog and cat. *Canadian Veterinary Journal* 48: 316-318, 2007.
21. Auriemma E, Barthez PY, van der Vlugt-Meijer RH, Voorhout G, Meij BP. Computed tomography and low-field magnetic imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 11 cases (2001-2003). *Journal of American Veterinary Medicine Association* 235: 409-414 2009
22. Van Rijn S, Grinwis GCM, Penning LC, Meij BP. Expression of Ki-67, PCNA, and p27kip1 in canine pituitary corticotroph adenomas. *Domestic Animal Endocrinology* 38: 244-252, 2010.
23. Ishino H, Hara Y, Takekoshi S, Teshima T, Teramoto A, Osamura RY, Tagawa M. Ki-67 and minichromosome maintenance-7 (MCM7) expression in canine pituitary corticotroph adenomas. *Domestic Animal Endocrinology* 41: 207-213, 2011.

7. CONCLUSIONI

L'ipofisectomia transfenoidale è una tecnica ancora poco diffusa e conosciuta in ambito veterinario. Questa tesi ha contribuito a dimostrarne l'applicabilità nella gestione di adenomi ipofisari nel cane.

I migliori risultati in termini di mortalità e recidiva sono stati ottenuti nel trattamento di neoplasie di piccole dimensioni. Purtroppo la chirurgia viene solitamente consigliata quando gli adenomi diventano di notevoli dimensioni e compare la sintomatologia neurologica. Questa tendenza fa sì che i casi sottoposti ad intervento chirurgico presentino fattori prognostici più sfavorevoli. Si verificano infatti un maggior numero di complicazioni e di maggior gravità in caso di tumori di dimensioni molto aumentate, con grossi rischi la vita dell'animale. Questa chirurgia dovrebbe invece essere largamente utilizzata, come nell'uomo, per intervenire al posto della terapia medica (inibitori della sintesi di cortisolo) nel trattamento di adenomi di piccole dimensioni. Solitamente le complicazioni, se gestite adeguatamente non portano a morte l'animale; abbiamo tuttavia osservato un tasso elevato di eutanassie nei pazienti che non mostrano una buona ripresa dopo l'intervento chirurgico e che presentano complicazioni rilevanti (es. trombosi) nel periodo post-operatorio. Abbiamo evidenziato, al contrario, che cani che presentano neoplasie di dimensioni più contenute hanno un risveglio più rapido, con una migliore ripresa delle grandi funzioni organiche e ciò aiuta nella gestione post-operatoria. In questi pazienti, inoltre, il periodo di degenza, così come il tasso di complicazioni, appare più basso. E' importante quindi sottolineare che una diagnosi precoce di macroadenoma ipofisario può rendere più semplice l'intervento chirurgico e la gestione post-operatoria.

Per poter gestire al meglio questi pazienti è fondamentale la collaborazione tra più specialisti, quali l'endocrinologo, il chirurgo, l'anestesista, il medico della terapia intensiva e il neurologo. E' importante inoltre sviluppare dei protocolli sia diagnostici che terapeutici per non tralasciare dei dettagli che possano compromettere la buona riuscita dell'intervento.

Risulta poi altrettanto determinante la disponibilità del proprietario sia dal punto di vista economico che nella gestione ormonale di questi pazienti. Il proprietario deve infatti far fronte alle esigenze di un cane che dipende fortemente dall'assunzione di corticosteroidi e ormoni tiroidei a vita.

L'adenomectomia per le neoplasie ipofisarie nel cane non sembra essere possibile ad oggi, per l'impossibilità d'individuare con precisione nelle immagini di TC l'esatta posizione dell'adenoma e per la difficoltà da parte del chirurgo di distinguere visivamente il tessuto tumorale dal tessuto normale. L'utilizzo di scansioni dinamiche TC dell'ipofisi durante la somministrazione di mezzo di contrasto può tuttavia fornire informazioni più precise sulla morfologia della neoplasia ipofisaria ed è possibile che in futuro, anche in Medicina Veterinaria si arrivi all'adenomectomia selettiva.

Il reintervento e la radioterapia sono risultate essere entrambe una valida opzione nel cane, come nell'uomo, in caso di recidive. Entrambe le opzioni hanno garantito una buona qualità di vita per periodi di tempo piuttosto lunghi. I due cani riportati nella presente tesi risultano essere gli unici casi documentati in letteratura.

In caso di tumori di notevoli dimensioni la chirurgia può avere lo scopo di ridurre l'effetto massa in tempi brevi, rimuovendo quanto più tessuto neoplastico possibile. Tuttavia, l'asportazione parziale del tumore ACTH-secerne, richiede spesso la ripresa della terapia medica per ridurre i sintomi legati all'ipercortisolismo. In questi casi l'utilizzo della radioterapia potrebbe essere coadiuvante nella gestione del tumore; ad oggi, tuttavia non sono disponibili informazioni a riguardo in letteratura. Inoltre, vista la tendenza di alcune neoplasie a mostrare una maggiore malignità biologica, nonostante vengano considerate istologicamente benigne, sarebbe importante individuare dei marker precoci che permettano di individuare i tumori con comportamento più aggressivo. Ciò potrebbe far propendere il veterinario e il proprietario per l'ausilio della radioterapia subito dopo l'intervento chirurgico, per impedire o ritardare eventuali recidive.

