

Trabajo de Fin de Grado

Grado en Medicina

**Análisis Clínico a los 4 años del
Registro Molecular de Adenomas Hipofisarios
(REMAH) en Canarias**

Autora:

Ana Gil Villalba

Tutores:

Dr. Judith López Fernández

Doctora en Medicina. Médico Especialista en Endocrinología y Nutrición.

Departamento de Medicina, ULL. Servicio de Endocrinología y Nutrición, HUC.

Dr. José Gregorio, Oliva García

Doctor en Medicina. Médico Especialista en Endocrinología y Nutrición.

Departamento de Medicina, ULL. Servicio de Endocrinología y Nutrición, HUNSC.

Índice de contenidos

Índice de contenidos.....	2
Resumen:.....	3
Abstract.....	4
Introducción.....	5
Hipótesis:.....	11
Objetivos:.....	12
Material y métodos.....	12
Resultados.....	14
Discusión.....	21
¿Qué he aprendido con el TFG?.....	25
Bibliografía.....	27
Aceptación del tutor.....	29

Resumen:

El *REMAH* es un proyecto de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), que tiene como principal objetivo elaborar una base de datos nacional de adenomas hipofisarios (AH) (www.remahnacional.com), para recoger información acerca de su comportamiento clínico y de su perfil molecular. En el año 2014 se inicia el REMAH en Tenerife, que actualmente cuenta con muestras y datos de pacientes del Hospital Universitario de Canarias (HUC), el Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria (HUNSC) y el Hospital Insular de Gran Canaria.

Nuestro *objetivo* ha sido recoger todas las variables clínicas de los pacientes estudiados (antes de la cirugía y al año de la misma), e incluirlos en la base REMAH, además de obtener un pequeño fragmento tumoral que se envía al Instituto Maimónides de Investigación Biomédica (IMIBIC) de la Universidad de Córdoba donde están realizando el estudio molecular. En la presente memoria se analizan los datos clínicos desde la puesta en marcha del proyecto y se mantiene el engranaje necesario para la vehiculación de la muestra al nodo.

Resultados: contamos con 69 pacientes. La edad media de nuestra serie fue de $53.2 \pm$ años, predominando varones (56,5%). El mayor número de muestras proviene del equipo neuroquirúrgico del HUNSC (92,8 %). Los tumores más frecuentes fueron los macroadenomas (91,3%) no funcionantes (60,8%). La hiperproducción hormonal más frecuente fue la acromegalia (20,3 %), seguida del Cushing (7,2%). El eje más lesionado prequirúrgicamente fue el gonadotropo (43.5%), mientras que el corticotropo fue el que más aumentó en el postquirúrgico (12.9%). Algunos de estos pacientes presentaban clínica derivada del efecto masa: cefalea (23,2%) y alteraciones campimétricas (30,4%); la presencia de estos síntomas y el tamaño > 2 cm se asociaron con menores tasas de remisión (50% vs 85.7%, $p=0.006$; 55.6% vs 86.8%, $p=0.010$ y 50% vs 100%, $p<0.001$ respectivamente). La anatomía patológica se realizó en todos los casos, pero sólo se realizó inmunohistoquímica (IHQ) para Ki-67 en el 34.8%, de ellos el 33.3% tenían un índice proliferativo muy alto ($>3\%$) para corresponder a un AH. Se recogieron todos los fragmentos tumorales para el estudio molecular, este procedimiento fue seguro y no interfirió con la rutina clínica estandarizada.

Conclusión: la implicación multidisciplinar ha sido esencial para la puesta en marcha y mantenimiento REMAH-Canarias. Los 2 únicos factores clínicos predictores de no resolución fueron: el tamaño tumoral > 2 cm y presencia de síntomas compresivos (cefalea o defectos del campo visual) antes de la cirugía. Hubo muchos parámetros que no tenían la suficiente potencia estadística; el poder disponer de un gran registro nacional (REMAH) de una patología poco prevalente nos ayudará a definir mejor factores pronósticos y posiblemente la selección de tratamientos precoces. El análisis molecular de nuestros tumores, aún en marcha, posiblemente nos permitirá además selecciones terapéuticas personalizadas. Parece interesante analizar si la determinación sistemática del Ki67 puede aportar algo a la predicción clínica y si sería más conveniente analizar este marcador mediante IHQ o por análisis molecular, estudios que ya están en marcha.

Palabras clave: REMAH, Adenoma hipofisario, acromegalia, Ki67

Abstract

The *REMAH* is a project of the Spanish Society of Endocrinology and Nutrition (SEEN) whose main objective is to create a national database of pituitary adenomas (AH) (www.remahnacional.com), to obtain information about their clinical behaviour and about their molecular profile. In 2014, REMAH began in Tenerife, and currently has samples and patient data from the *Hospital Universitario de Canarias* (HUC), the *Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria* (HUNSC) and *Hospital Insular of Gran Canaria*.

Our objective was to collect all the clinical variables of the patients studied (before the surgery and one year after surgery), and include them in the REMAH database, in addition to obtaining a small tumour fragment that is sent to the Institute of Biomedical Research (IMIBIC) of the University of Córdoba where they are conducting the molecular study. In the present report the clinical data is analysed from the beginning of the project and the necessary gear for the sending of the sample to the node is maintained.

Results: we have 69 patients. The mean age of our series was $53.2 \pm$ years, predominantly men (56.5%). The largest number of samples comes from the neurosurgical team of HUNSC (92.8%). The most frequent tumours were non-functioning (60.8%) macroadenomas (91.3%). The most frequent hormonal hyperproduction was acromegaly (20.3%), followed by Cushing (7.2%). The axis most injured preoperatively was the gonadotrope (43.5%), while the corticotrope was the most increased post-surgical (12.9%). Some of these patients presented symptoms derived from the mass effect: headache (23.2%) and campimetric alterations (30.4%); the presence of these symptoms and the size > 2 cm were associated with lower remission rates (50% vs. 85.7%, $p = 0.006$, 55.6% vs. 86.8%, $p = 0.010$ and 50% vs. 100%, $p < 0.001$ respectively). The pathological anatomy was performed in all cases, but only immunohistochemistry (IHC) was performed for Ki-67 in 34.8%, of which 33.3% had a very high proliferative index ($> 3\%$) to correspond to an AH. All tumours fragments were collected for the molecular study, this procedure was safe and did not interfere with the standardized clinical routine.

Conclusion: multidisciplinary involvement has been essential for the start-up and maintenance of REMAH-Canarias. The only 2 clinical factors predictive of non-resolution were: tumour size > 2 cm and presence of compressive symptoms (headache or visual field defects) before surgery. There were many parameters that did not have enough statistical power; having a large national registry (REMAH) of a less prevalent pathology, will help us have more knowledge about prognostic factors and possibly the selection of early treatments. The molecular analysis of our tumours, still underway, will possibly also allow us to customize therapeutic selections. It seems interesting to analyse if the systematic determination of Ki67 can contribute something to the clinical prediction and if it would be more convenient to analyse this marker by means of IHC or by molecular analysis, studies that are already underway.

Keywords: REMAH, pituitary adenoma, acromegaly, Ki67

Introducción

El REMAH es un proyecto de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), que tiene como principal objetivo elaborar una base de datos nacional de adenomas hipofisarios (AH) (www.remahnacional.com), para recoger información acerca de su comportamiento clínico y de su perfil molecular. Este registro nacional se crea bajo la iniciativa de la Sociedad Andaluza de Endocrinología y Nutrición (SAEN) en 2008 y posteriormente lo adopta la SEEN. Cuenta con la coordinación de 6 nodos: Córdoba, Madrid, Alicante, Santiago de Compostela, Barcelona y Bilbao. En ellos se realiza el análisis molecular de 26 genes establecidos cuyos niveles de expresión son analizados mediante un método sistematizado y estandarizado de registro y medida. Este proyecto supone recabar una fuente amplia de información acerca de una patología de baja prevalencia y heterogénea expresión clínica, sobre la que basar futuros estudios que analicen el comportamiento tumoral combinando los fenotipos clínicos con su expresión génica, y así establecer mejoras en los marcadores diagnósticos, pronósticos y nuevos tratamientos.

Los AH son una patología relativamente infrecuente, con una prevalencia estimada del 16,7% (1, 2, 3). Son la tercera causa de tumor intracraneal tras los meningiomas y gliomas. A su vez, dentro de los tumores hipofisarios suponen más del 90% de los mismos. El diagnóstico diferencial se realiza con tumores hipotalámicos (craneofaringioma, hamartoma), paraselares (meningioma, aneurisma, glioma), procesos infiltrativos (hemocromatosis, sarcoidosis, histiocitosis) e infecciosos (histoplasmosis, toxoplasmosis), entre otros.

Origen y Diferenciación Celular de la Hipófisis Anterior (HA)

La hipófisis es una glándula endocrina alojada en la silla turca (hueso esfenoides), base del cráneo. Se divide en dos partes:

Lóbulo posterior o neurohipófisis compuesta por proyecciones axonales hipotalámicas (desde los núcleos supraóptico y paraventricular). Deriva del neuroectodermo. Produce oxitocina y hormona antidiurética (ADH)

Lóbulo anterior o adenohipófisis. Compuesta por 6 grupos celulares, que provienen de un precursor o *stem cell* común, que por mecanismos de represión y expresión génica resultan estos 6 grupos altamente especializados. Cada grupo celular expresa la maquinaria específica para sintetizar cada tipo de hormona y el marcador final de diferenciación es la síntesis y secreción de la misma. De este modo, los lactotropos expresan prolactina (PRL), los somatotropos hormona del crecimiento (GH), los corticotropos la hormona corticotropa (ACTH), los gonadotropos hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) y los tirotropos la hormona estimulante del tiroides (TSH). Todas estas hormonas sintetizadas en la hipófisis anterior (HA) son de naturaleza peptídica y ejercen sus acciones a través de un receptor de membrana en sus órganos diana.

Los grupos celulares de la AH responden a múltiples señales que les llegan desde la periferia y desde el hipotálamo, que sintetiza los grandes reguladores de la HA. Son péptidos que deben unirse a receptores específicos de cada grupo celular hipofisario

para ejercer su acción; algunos son estimuladores de la síntesis/secreción hormonal (GHRH, TRH, CRH, GnRH) y otros, como somatostatina (SS), que la inhiben; hay también otros reguladores no peptídicos como la dopamina (4, 5).

Por ejemplo, el eje somatotrofo necesita expresar el receptor de GHRH (GHRH-R) y el receptor de SS, mientras que, el lactotrofo expresa el receptor para dopamina y SS y el tirotrofo el receptor de TSH (TSH-R).

En su origen, la adenohipófisis deriva de una invaginación del ectodermo denominada bolsa de *Rathke*. Durante el desarrollo embrionario la célula madre común se diferenciará en los distintos grupos celulares comentados gracias a la aparición de factores de transcripción (proteínas que interaccionan con el ADN) que son específicos de cada grupo (6):

- T-Pit: células productoras de ACTH
- Prop-1: células productoras de GH, PRL, TSH y gonadotropinas.
- Pit-1 o GHF-1: GH, PRL, TSH
- SF1, DAX1: células productoras de gonadotropinas

Cada uno de los grupos celulares de la HA adulta necesitará de estos factores de transcripción para activar la maquinaria de la producción hormonal. Sintetizando se obtiene que, cada tipo celular debe actuar integrando una serie de señales externas para emitir una respuesta en forma de hormona. Se explica en el siguiente ejemplo: el grupo somatotrofo exige la expresión de Pit-1 para llevar a cabo la síntesis de GH, pero también exige receptores que le permitan responder a los estímulos hipotalámicos de forma correcta como el receptor de GHRH (GHRH-R) o el receptor de somatostatina (SS-R).

Es un proceso muy complejo y regulado por múltiples y finas vías de señalización; para que se pueda realizar de forma correcta es necesario que las células de la HA mantengan un índice de proliferación bajo. Cuando alguno de estos múltiples mecanismos reguladores se altera, la expresión hormonal y de sus receptores específicos también lo hace y puede aumentar el índice de proliferación.

No hay un mecanismo único por el que se altera esta diferenciación celular, y en el caso de los AH se asocia a bajos índices de proliferación (lenta capacidad de crecimiento), pudiendo mantener la secreción hormonal pero generalmente alterada (se puede producir la hormona en exceso y respondiendo de forma inadecuada a los estímulos fisiológicos normales).

Aunque la mayor parte de los AH surge de mutaciones esporádicas, es importante mencionar que el 5% puede ocurrir como parte de síndromes hereditarios como *MEN1*, *MEN4*, *Complejo Carney* o el *Síndrome de McCune Albright*.

Clasificación de los Adenomas Hipofisarios (AH)

Se pueden clasificar en función del tamaño y de la producción hormonal.

1. Según tamaño: en macro o microadenomas siendo el límite los 10 mm. Los macroadenomas al crecer pueden dar síntomas derivados del efecto masa de los que se hablará más adelante.
2. Según producción hormonal:
 - **Adenomas Hipofisarios Funcionantes (AHF)**; producen síntomas derivados del exceso hormonal

- Productor de ACTH: da lugar a hipercortisolismo de origen central o enfermedad de Cushing
- Productor de GH: producen acromegalia.
- Productor de PRL o prolactinoma: producen un exceso de PRL que se traduce en galactorrea y déficit gonadal (amenorrea o infertilidad en la mujer y descenso de la libido o infertilidad en el hombre). Los prolactinomas y los no funcionantes son los AH más frecuentes.
- Productor de TSH o TSH-omas: producen hipertiroidismo central o secundario.
- Productor de LH / FSH o Gonadotropinomas: producen hipogonadismo central o secundario (hipogonadismo hipogonadotropo).
- En ocasiones hay adenomas mixtos/ plurihormonales.
- **Adenomas Hipofisarios No funcionantes (AHNF).** No hay hiperproducción hormonal ni por tanto clínica derivada de esta y si son macroadenomas pueden dar clínica derivada del efecto masa. La gran mayoría derivan del linaje gonadotropo, productores de subunidad alfa de las glicoproteínas (CGA). La introducción de la inmunohistoquímica y el análisis molecular ha permitido distinguir aquellos verdaderamente no funcionantes: null cell adenomas - suponen una minoría (1%)- de los que en realidad son silentes. (6)
- **Adenomas silentes:** aparentemente AHNF por no presentar hipersecreción hormonal, pero expresan receptores para uno o múltiples subtipos celulares. Estos están relacionados con un aumento en la agresividad y recurrencia, por lo que el análisis molecular podría jugar un papel esencial para enfocar un tratamiento dirigido. (4, 7, 8, 9)

Clinica de los AH:

Los AH son tumores benignos desde el punto de vista histológico, que sin embargo, pueden presentar un comportamiento clínico deletéreo debido a su crecimiento intraselar y extraselar además de la hiperproducción hormonal. Lo más habitual es que los AH presenten un crecimiento lento, pero algunos pueden comportarse de forma agresiva invadiendo estructuras rápidamente o recurriendo tras su extirpación. Solo entre el 0.1-0.2% progresan hacia formas malignas con metástasis, debido a que, como se dijo antes, las células hipofisarias son altamente especializadas con importantes restricciones intrínsecas que evitan la proliferación descontrolada (7).

No existen factores predictores del comportamiento clínico (salvo cuando hay gran invasión de estructuras cerebrales adyacentes o metástasis a distancia); tampoco hay marcadores que predigan recidiva o alta tasa de invasión. Los restos celulares no operables pueden expresar receptores susceptibles de responder a tratamientos con determinados fármacos, que en el momento actual se inicia de forma empírica.

La puesta en marcha del REMAH permitirá recoger todas las variables clínicas de este tipo de tumores que combinado con su análisis molecular nos informará de receptores o marcadores que expresen estos tumores que podrían ser marcadores diagnósticos, pronósticos o de tratamientos personalizados (en función de los receptores que exprese el tumor).

La clínica va a depender de la velocidad de instauración, de si hay o no hiperproducción hormonal y de si hay efecto masa (clínica derivada del crecimiento tumor). A veces los

AH se diagnostican como incidentalomas en pruebas de imagen, cuya incidencia ha aumentado.

Los funcionantes tendrán una clínica característica reflejada en la tabla 1.

Corticotropo	Somatotropo	Lactotropo	Gonadotropo	Tirotropo
<i>Enfermedad de Cushing</i> - Obesidad central - Cara de luna - Plétora facial - ↓ libido - Estrías rojizas - Alt. menstruales - Hirsutismo - HTA - DM - Depresión	<i>Acromegalia</i> - ↑ tamaño acral - ↑ espesor piel - Sudoración profusa - Hipertrofia ventricular - Macroglosia - Apnea del sueño - Sdme tunel carpiano - DM - HTA	- ♀ Amenorrea galactorrea - ♂ ↓ libido e impotencia	<i>No suele tener relevancia clínica</i> - ♀ Premenopáusicas hiperestimulación ovárica. Niñas con pubertad precoz - ♂ varones con pubertad precoz	Hipertiroidismo secundario: - Bocio difuso - Temblor distal - Ansiedad - Taquicardia - Sudoración - Intolerancia al calor - ↑ apetito - ↓ peso...

Tabla 1. Manifestaciones clínicas asociadas a los AHF

Clínica derivada del efecto masa (generalmente en los macroadenomas):

- **Hipopituitarismo:** por lesión de los grupos celulares hipofisarios adyacentes al tumor (pueden estar lesionados 1 o varios ejes hormonales y haber o no lesión de la neurohipófisis). Siendo por orden los ejes más proclives a afectarse el somatotropo, gonadotropo, tiroideo y adrenal (1, 7). Los síntomas de hipogonadismo son los más frecuentes, seguidos del hipotiroidismo e insuficiencia adrenal; mientras que el déficit de GH puede pasar inadvertido. Si el hipopituitarismo es agudo se produce una apoplejía hipofisaria (necrosis hemorrágica o necrótica por crecimiento del tumor), con aparición brusca de cefalea, vómitos, alteración del nivel de conciencia, alteraciones visuales, inestabilidad hemodinámica, colapso circulatorio y constituye una urgencia vital. Es más frecuente en AHNF de crecimiento rápido.
- **Diabetes insípida (DI).** La afectación neurohipofisaria es infrecuente debido a la extensión del tumor, suele aparecer en el postoperatorio por lesión de los tractos de la neurohipófisis en el acto quirúrgico (a veces es transitoria).
- **Hiperprolactinemia.** La compresión del tallo hipofisario suprime la inhibición hipotalámica produciendo hiperprolactinemias de desconexión, siendo estas moderadas (<200 ng/ml) y dando clínica semejante a prolactinomas como amenorrea, galactorrea, disminución de la libido, astenia.
- **Cefalea,** por distensión de la duramadre (generalmente en tumores muy grandes)
- **Expansión y crecimiento fuera de la silla turca:**
 - Hacia arriba: compromiso de la vía visual a nivel quiasmático; desde una cuadrantopsia temporal superior hasta la hemianopsia bitemporal.
 - Hacia el lateral: Invasión del seno cavernoso y parálisis oculomotora (III, IV, VI par) afectación de la sensibilidad en el territorio del *V par* (ramas V1 y V2) (7).
 - Hacia abajo: licuorrea de LCR.

Diagnóstico de los AH:

La presencia de sospecha clínica, añadida a analítica hormonal y RM con gadolinio centrada en le área hipotálamo hipofisaria da el diagnóstico. La RM sirve para catalogar el tumor en función de su tamaño, si invade estructuras vecinas, y de cara a la preparación quirúrgica.

La analítica completa con todos los ejes determinará el carácter funcional del tumor y/o si hay hipofunción de glándula. Se debe solicitar:

- Tiroideo: TSH y T4 libre
- Adrenal: Cortisol. En caso de sospecha de Cushing ampliar con cortisol libre urinario (CLU), ACTH y test de supresión con bajas dosis de dexametasona.
- Somatotro: IGF-1. Si cifras altas confirmarse con test de sobrecarga oral de glucosa (SOG). Importante tanto en la enfermedad de Cushing como en la Acromegalia la sospecha diagnóstica en base a los rasgos fenotípicos.
- Gonadal: FSH y LH.
 - En varones se pueden plantear: elevación de FSH aislada con LH y testosterona disminuidas; o viceversa a lo que se sumaría hiperplasia testicular.
 - En mujeres premenopáusicas, la elevación de FSH en correlación con quistes ováricos, hiperplasia endometrial o la clínica antes comentada de amenorrea/oligomenorrea es muy sugestiva. En postmenopáusicas se puede contrarrestar la elevación desproporcionada FSH o LH con niveles de estradiol indetectables. (7, 10)
- PRL
- Si se sospecha DI solicitar osmolaridad plasmática y urinaria con concentración de sodio.

Esencial la valoración oftalmológica en afectación quiasmática.

Tratamiento de los AH:

El tratamiento de los AH es quirúrgico (salvo para el prolactinoma), pero si antes de la cirugía hay hipopituitarismo es necesario primero sustituir ejes deficitarios. La sustitución tiene que hacerse por este orden: 1º eje corticoideo (hidrocortisona), 2º tiroideo (levotiroxina), luego el resto de ejes. (1)

La vía de elección es la transesfenoidal endoscópica (CTE). Si el adenoma se expande fuera de la silla turca muchas veces se trasforma en irresecable, por dificultad en la vía de acceso o por riesgo de daño neurológico. A su vez, puede dejar secuelas como la persistencia de la masa tumoral en determinadas áreas, déficits hormonales que previamente no existían, fístulas de LCR, otras.

La **radioterapia** se reserva como adyuvante post-cirugía en casos de persistencia de restos o recurrencia de los mismos, tiene un inicio lento y pueden aparecer secuelas a largo plazo, la más importante, la hipofunción hipofisaria.

El tratamiento **farmacológico** es de primera elección en prolactinomas y en el postoperatorio se emplea para la sustitución de déficits hormonales y como coadyuvante para el control de masa tumoral no resecada o la hiperproducción. Los más empleados son:

- Agonistas dopaminérgicos: actúan contra los receptores de dopamina (DR). Los más extendidos son los actúan contra DR2: *bromocriptina*, *cabergolina*. Se usan principalmente en prolactinomas. También en algunos AHNF, Cushing y acromegalia.
- Análogos de somatostatina (SSA): se unen al receptor de SS (SS-R) y bloquean la síntesis y secreción de GH, TSH y PRL, también son inhibidores del crecimiento celular. Hay definidos 4 subtipos (sst-1, sst-2, sst-3 y sst-5). *Lanreotide* y *octeotide* actúan contra sst-5, *pasireotide* es multirreceptor. Se emplean cuando el tratamiento quirúrgico no es suficiente para extirpar la masa celular en acromegalia fundamentalmente, o previa a la cirugía para debulking e inicio del control clínico. Entre las indicaciones del pasireotide también se encuentra la enfermedad de Cushing (11)
- Los antagonistas del receptor GH como *Pegvisomant* actúan a nivel de los tejidos bloqueando el receptor de GH e impidiendo la traducción de la señal. Son de segunda línea cuando los SSA fracasan o en ocasiones, en asociación con ellos.

Actualmente están en fase de desarrollo fármacos que actúan contra otros receptores, como la Ghrelina, o sobre determinadas rutas celulares. No obstante, no se dispone de marcadores moleculares que permitan asegurar la adecuada respuesta a un fármaco, con el consiguiente retraso en el tratamiento y aumento de los costes derivados del uso de fármacos inefectivos.

Potencial papel del REMAH en el Diagnóstico, Pronóstico y Tratamiento de los AH

En resumen de lo visto con anterioridad, los AH son tumores histológicamente benignos pero de comportamiento clínico muy heterogéneo lo que puede hacer que en ocasiones se cataloguen de tumores agresivos: invasión importante de estructuras vecinas, hiperproducción hormonal con resistencia a tratamiento farmacológico, recurrencias precoces a pesar de seguir varias líneas de tratamiento. Todo ello se suma a la escasa prevalencia de la patología que provoca la ausencia de estudios firmes que señalen hacia marcadores específicos de mal pronóstico o dianas terapéuticas concretas.

Bajo esta idea se promueve el registro REMAH, con el fin de aumentar la casuística y lograr definir predictores del comportamiento tumoral. Esta iniciativa recoge los datos clínicos, analíticos, radiológicos y de tratamiento de los que hemos hablado con anterioridad; pero también suma la anatomía patológica, IHQ de la pieza y análisis molecular de la misma.

Se va a estudiar la expresión cuantitativa de genes relacionados con la diferenciación hipofisaria y con su desregulación tumoral. Se analizará a nivel molecular si están sobre o infra expresados, o si hay expresión aberrante, todo ello con finalidad diagnóstica (aquí la importancia de diferenciar lo AH silentes), pronóstica y terapéutica. Los genes serán los siguientes:

- Hormonas hipofisarias y receptores de estas hormonas;
- Receptores de péptidos hipotalámicos y de productos no peptídicos (GHRH-R, GnRH-R, CRH-R, TRH-R, dopamina-R).

- Ghrelin. Se ha visto que el gen de la grelina y sus receptores GHSR1a/b, que se expresan en condiciones normales en la hipófisis pueden estar involucrados en la patogenia de los adenomas, regulando vías de señalización intracelular, la secreción hormonal y la viabilidad celular. La sobreexpresión se observa sobre todo en GHomas, aunque también en ACTHomas y en menor medida en AHNF y PRLomas (3).
- Desmopresina (AVP) y AVPR. La desmopresina es el análogo sintético del neuropéptido argnina-vasopresina (AVP) que presenta afinidad por los receptores **AVRP**. En la hipófisis se encarga de la homeostasis y respuesta al estrés. Se ha visto un papel estimulador de la secreción de ACTH, sin implicación en otros AH. El empleo de antagonistas de estos receptores bloquea por completo este efecto por lo que se empiezan a explorar: AVRP2: *tolvaptan*, AVRP1a: *relcovaptan*, AVRP1b *nelivaptan* (12).
- Factores de transcripción específicos de los grupos celulares hipofisarios: Pit1/GHF-1, T-Pit, Prop-1, SF1, DAX1. Porque su expresión correcta es esencial para mantener la diferenciación y especificidad de cada grupo celular hipofisario.
- El gen transformador del tumor pituitario 1 (PTTG1), también llamado securina y el factor inducido por hipoxia (HIF-1 α). Han demostrado su participación en la angiogénesis por estimulación del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). PTTG1 a su vez, promueve la separación de los cromosomas en anafase. Su sobreexpresión de estos factores en AH invasivos se ha relacionado con el incremento de la proliferación celular y la inestabilidad cromosómica, participando en la transformación de hiperplasia a adenoma. (4, 13) Ambos factores se han relacionado con AH de peor pronóstico
- Marcadores de proliferación celular (como el Ki67 y p53). Aunque no existan marcadores categóricos establecidos, la cuarta edición de la OMS para la clasificación de los tumores endocrinos (2017) recomienda la realización del índice de proliferación Ki67 y del índice mitótico que junto con la invasión local actúan como predictores del comportamiento agresivo. Las células endocrinas al estar altamente diferenciadas presentan escasa división celular y por ende bajo índice de proliferación. Un índice Ki67 >3% se considera elevado y se recomienda seguimiento estrecho o terapia adyuvante (1). Otros marcadores como un elevado índice mitótico o una alta expresión de p53 hablan a favor de un mayor tamaño tumoral o crecimiento invasivo hacia senos cavernosos (14).

Hipótesis:

La hipótesis de trabajo es que seré capaz de completar una curva de aprendizaje en la investigación clínica y traslacional, manteniendo activa la base REMAH en Canarias lo que implica articular acciones entre varios centros hospitalarios .

Para esto mi tarea será el seguimiento (datos clínicos, analíticos, radiológicos y de anatomía patológica) de los tumores hipofisarios provenientes de Tenerife (HUC y HUSNC) y Gran Canaria (H. Insular), la recogida de un fragmento tumoral durante la cirugía y su vehiculación al IMIBIC donde se procederá al estudio molecular. Esto me permitirá realizar un análisis del comportamiento clínico de los AH.

Objetivos:

Objetivo primario

Iniciar el aprendizaje en investigación clínica contribuyendo al mantenimiento y mejoría del proyecto REMAH-en canarias y el análisis de nuestra casuística desde que se inicia el registro.

Objetivos secundarios:

- Recoger las características clínicas basales (síntomas, radiología y analítica) de los pacientes con AH que van a ser intervenidos quirúrgicamente para su registro en la base REMAH.
- Recoger las características clínicas (síntomas, radiología y analítica) de los pacientes con AH al año de su intervención.
- Confirmar su diagnóstico mediante AP y evaluar los marcadores de IHQ analizados en rutina clínica
- Realizar la correcta vehiculación de las muestras de los AH desde el quirófano hasta su recepción en el IMIBIC (nodo de Córdoba), donde se está procediendo al estudio molecular).

Material y métodos

Población objeto de estudio

Criterios de inclusión: todos los pacientes, mujeres/hombres de cualquier edad y comorbilidad que sean intervenidos quirúrgicamente de AH (funcionantes o no) en el HUC o en el HUNSC. Siempre previa firma del consentimiento informado (CI).

Criterios de exclusión: no firma del CI; Masas selares de otra naturaleza que no sean AH (ej. craneofaringiomas)

Registro de datos clínicos

VARIABLES A RECoger:

1. Pre-quirúrgicas:
 - a. Clínica (cefalea/afectación visual)
 - b. Si es o no recidiva
 - c. Analítica: déficit/hiperproducción hormonal de GH, ACTH, FSH/LH, TSH, PRL, existencia de DI.
2. Informe de RM con diámetro máximo y extensión supraselar o paraselar hacia senos cavernoso.
3. Cirugía: tipo y complicaciones
4. Confirmación anatomopatológica; si se realiza IHQ (y que parámetros se evalúan con técnica de IHQ).
5. Post-quirúrgicas (al año):
 - a. Evolución radiológica, si recidiva especificar el diámetro máximo de la lesión
 - b. Evolución clínica: persistencia o no de hiperproducción hormonal.
 - c. Análisis de las hormonas previamente comentadas

- d. Si ha precisado tratamiento farmacológico o radioterapia.
6. Los datos moleculares, que se realizan en el IMIBIC, no se incluyen en esta memoria por no estar concluidos y no haber sido realizados por mí.

Regida de la muestra tumoral

Una vez se extrae la pieza tumoral en quirófano, la mayor parte de la muestra, como está reglado en este proceso clínico se envía para su estudio de AP. Se ha estandarizado un circuito con los equipos quirúrgicos para la recogida y envío de la muestra. Así el equipo quirúrgico recoge un pequeño fragmento tumoral en condiciones de preservación específicas: recogida en criotubos con entorno libre de RNA-sas (solución de RNA-latter, manipulación con guantes), preservados de la luz y conservados a -4°C, hasta su envío (mensajería urgente) al IMIBIC. Aunque las muestras tumorales así preservadas teóricamente podrían ser viables para su estudio hasta 1 mes, cuanto menor sea el tiempo en preservación, mayor será a calidad y cantidad del tejido a analizar. Para preservar la confidencialidad del paciente, la muestra va codificada con un número REMAH, por lo que cuando se recibe en el IMIBIC no se asocia con datos del paciente. En el Instituto IMIBIC de Córdoba se está realizando el estudio molecular.

Estudio molecular

Los fragmentos de tejido tumoral se procesan de forma estandarizada y protocolizada en los diferentes nodos moleculares, en nuestro caso en el de Córdoba. Se realiza una extracción de ARNm (de tal forma que se seleccionan únicamente genes que el tumor está transcribiendo). Se cuantificará la expresión de esos genes por medio de una *RT-PCR cuantitativa.

*RT-PCR cuantitativa
<ul style="list-style-type: none"> • Se parte de una muestra de ARN que se transforma, por medio de la <i>transcriptasa inversa</i>, en ADN complementario (ADNc) para poder llevar a cabo la PCR. Este procedimiento requiere una preparación con inhibidores RNAasa dada la alta sensibilidad del ARN, como el agua DEPC. • Con el molde ADNc se lleva a cabo la amplificación de la PCR cuantitativa (utilizando la <i>Taq</i> polimerasa) • Se diseñan los cebadores (<i>primers</i>) utilizando secuencias genómicas de GenBank y el programa Primer3, específicas para cada gen y bajo criterios determinados (como control interno, al tratarse de una RT-PCR, los cebadores deben incluir un intrón en su secuencia para poder detectar si lo que se amplifica es el ADN total y no el cADN). • La principal diferencia con la PCR cualitativa es la introducción de un fluoróforo de detección entre los reactivos, en este caso SYBR Green que se intercala entre las moléculas de ADN en síntesis para su posterior detección por un termociclador con sensores de fluoresceína. Es un método que permite no solo saber qué genes se transcriben sino la cantidad en la que lo hacen. • Se utilizan genes controles (<i>housekeeping</i>) para evaluar la cantidad de tejido y para poder cuantificar la amplificación.

Genes a cuantificar su expresión:

- *Hormonas*:
 - GH
 - Prolactina
 - POMC
 - Subunidad β de LH, FSH y TSH (LHB, FSHB y TSHB)
 - Subunidad α de las glicoproteínas (CGA)
- *Proteínas reguladoras de proliferación/muerte celular*:
 - Ki67

- PTTG1
- HIF-1 α
- *Receptores hormonales:*
 - Somatostatina (sst1, sst2, sst3 y sst5)
 - Dopamina (DRD1, DRD2T, DRD2L, DRD4 y DRD5)
 - GHRH (GHRH-R), GnRH (GnRH-R), CRH (CRH-R1)
 - AVP (AVPR1b)
 - Ghrelina (GHSR1a)
- *Genes de control:*
 - Beta-actina (ACTB)
 - Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GADPH)
 - Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT)

Análisis estadístico.

Se revisan prospectivamente las historias clínicas de los pacientes con AH sometidos a cirugía en el periodo entre octubre/2012 – enero/2019 (n=69) y se realiza un análisis descriptivo de las variables antes comentadas. Posteriormente, en el grupo que presentó recidiva tumoral al año se compararon los datos pre-quirúrgicos y la IHQ con test de contraste de hipótesis para variables categóricas Chi-cuadrado.

Resultados

Se han recogido muestras de adenomas hipofisarios de 69 pacientes (n=69). La mayoría de la muestras provenían del HUNSC (64/69), es decir el 92,8 %; mientras que del HUC un 7,2% (5/69). La edad media de los pacientes fue de 53.2 \pm 14 años, por sexos distinguimos: 56.5% varones (39/69), 43.5% mujeres (30/69).

Datos prequirúrgicos:

Respecto a los datos clínicos y analíticos preoperatorios encontramos que, como síntomas al diagnóstico un 23.2% (16/69) de la muestra presentaba cefalea y un 30.4% (21/69) alteraciones campimétricas confirmadas por estudio oftalmológico. (*Tabla 2*)

En cuanto a las alteraciones hormonales las proporciones quedaron de la siguiente manera (*Tabla 3*):

- Hipocortisolismo: 29% (20/69)
- Hipotiroidismo: 29% (20/69)
- Hipogonadismo: 43.5% (30/69)
- Déficit de GH: 14.5% (10/69)
- Hiperprolactinemia de desconexión: 33.3% (23/69)
- Diabetes insípida: 0% (0/69)
- Hiperproducción hormonal: 39.1% (27/69)

El resultado del estudio de RM cifra un diámetro medio de 21 ± 9.9 mm, con extensión supraselar el 50.7% (35/69) y extensión paraselar: 55.1 (38/69).

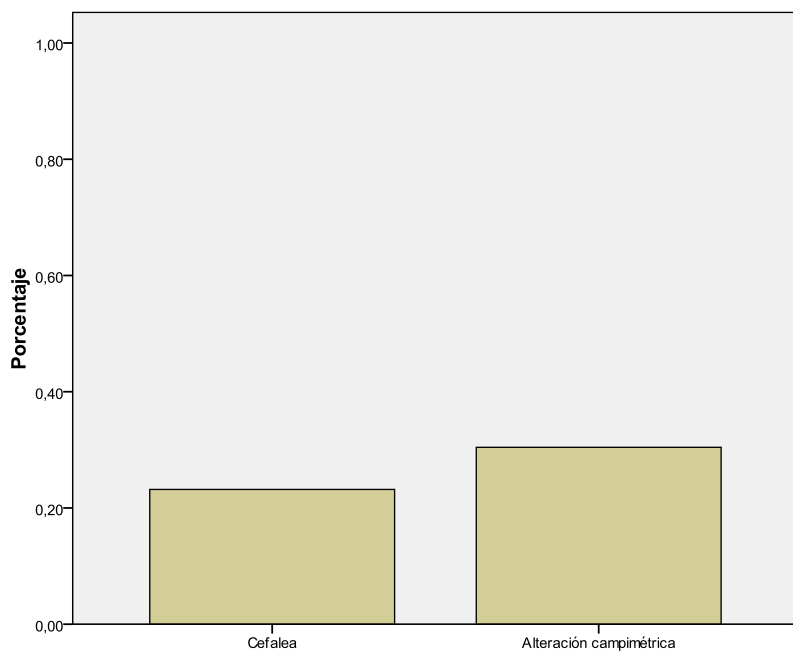


Tabla 2. Alteraciones clínicas al diagnóstico

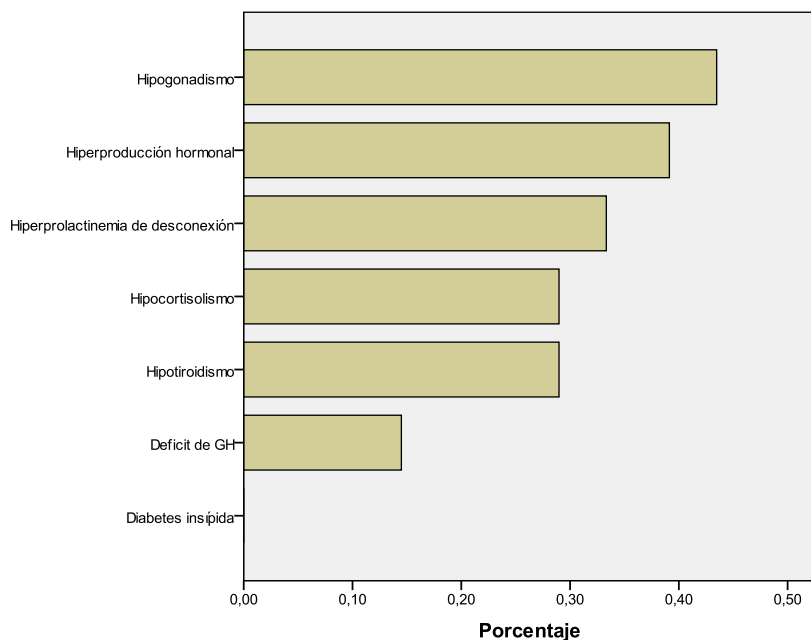


Tabla 3. Alteraciones hormonales al diagnóstico

Queda entonces la clasificación de AH de la siguiente manera (Tablas 4 y 5):

1. Según tamaño:
 - Macroadenomas: 91.3% (63/69)
 - Microadenomas: 8.7% (6/69).
2. Según producción hormonal:
 - No funcionantes: 60.8% (42/69)
 - Acromegalia: 20.3% (14/69)

- Síndrome de Cushing: 7.2% (5/69)
- Prolactinomas: 5.8% (4/69)
- Mixtos: 5.8% (4/69)

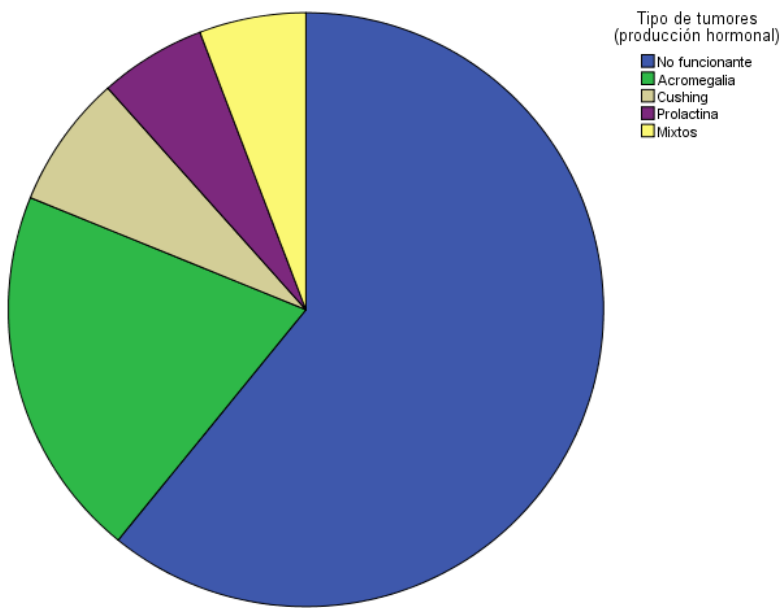


Tabla 4. Clasificación funcional

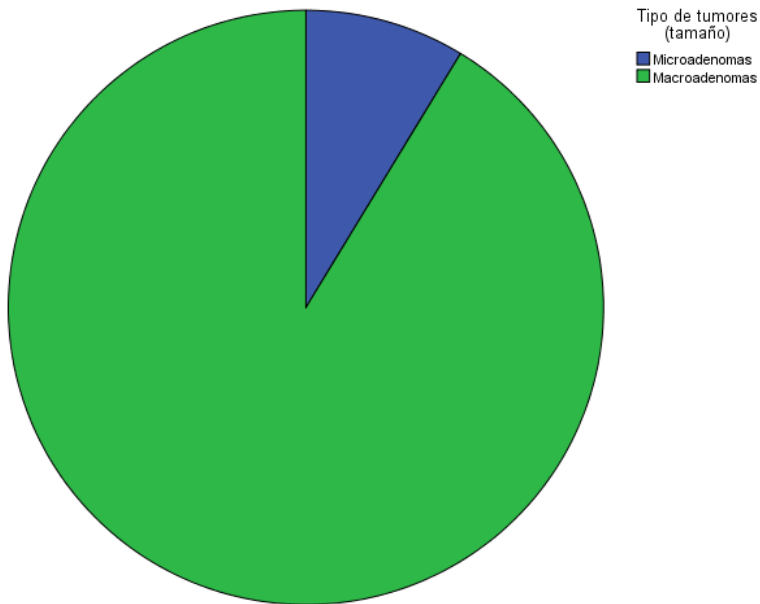


Tabla 5. Clasificación por tamaño

Quirúrgico:

Se registraron 16 pacientes con complicaciones en el postoperatorio inmediato: 5 casos de meningitis (7.2%), 3 casos con complicaciones infecciosas de otro tipo (4.3%), 2 casos de cefalea (2.9%), 2 pacientes con SIADH (2.9%) y 1 sangrado (1.4%). Es importante remarcar que todos los pacientes fueron intervenidos por cirugía transesfenoidal endoscópica salvo 2 que se intervinieron por craneotomía pterional. En un paciente fue primera opción por dificultad de acceso vía transnasal; y en el otro como segunda línea tras fracaso en la resección endoscópica. Estos dos pacientes (2.9%) presentaron complicaciones neurológicas severas tipo hemiparesia (1/2), afasia motora (2/2) y crisis convulsivas (1/2). (Tabla 6)

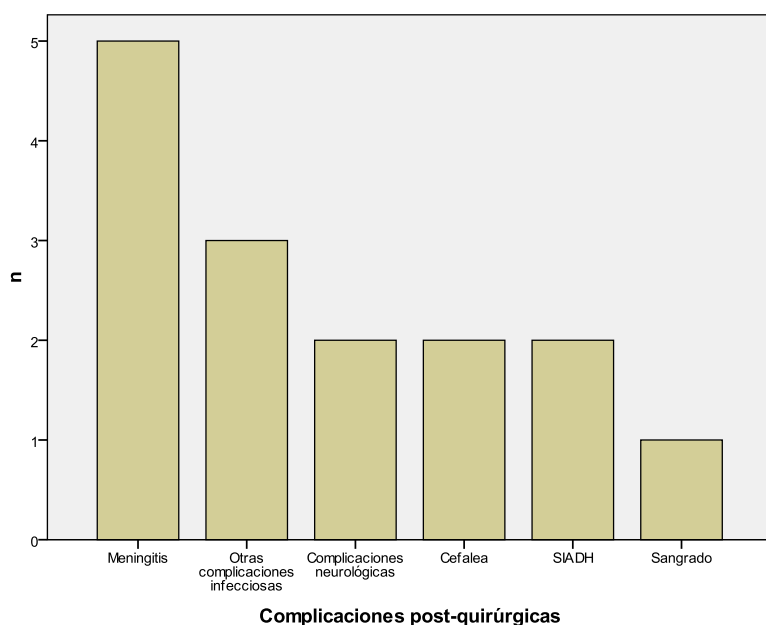


Tabla 6. Complicaciones postquirúrgicas

Análisis de la pieza tumoral:

El análisis empieza por la AP; de las muestras estudiadas se catalogó de adenoma hipofisario al 89.9% (62/69). La minoría restante: AH eosinófilo: 4.3% (3/69), AH papilar: 1.4% (1/69), AH acinar: 1.4% (1/69), AH con infiltrado linfoplasmático: 1.4% (1/69) y AH atípico: 1.4% (1/69).

Sólo se efectuó IHQ en el 34.8% de los tumores (24/69), separando según porcentaje de Ki67 en:

- >3%: 33.3% (8/24)
- 1-3%: 45.8% (11/24)
- <1%: 20.8% (5/24)

Evolución clínica tras la cirugía:

Hubo 2 pérdidas de seguimiento clínico y 4 pacientes incorporados al estudio recientemente que no cumplían el periodo de un año de seguimiento, pasando a ser n=63 pacientes. Respecto al seguimiento radiológico hubo 13 pérdidas (4 por temporalidad), es decir, n=56.

Evolución radiológica: al año de seguimiento se objetivó remisión radiológica en el 76.8% de los tumores intervenidos (43/56). Se analizaron potenciales factores asociados a la remisión radiológica, obteniendo los siguientes resultados:

- **Síntomas compresivos previos a la cirugía:**
 - La presencia de **cefalea** previa a la cirugía se asoció con menor tasa de remisión radiológica: 50% vs 85.7% (p=0.006). (Tabla 8)
 - La **alteración del campo visual** previa a la intervención se asoció con menor tasa de remisión radiológica: 55.6% vs 86.8% (p=0.010). (Tabla 9)
- **Tamaño tumoral:** los adenomas mayores de 2 cm presentaban menores tasas de remisión radiológica: 50% vs 100% (p<0.001). La presencia de extensión supraselar se asociaba a menor remisión radiológica: 68.8% vs 87.5%, aunque dicha diferencia se quedó al borde de la significación estadística (p=0.074). La extensión paraselar arrojaba datos similares: 67.7% vs 88%, tampoco con diferencia significativa (p=0.100). (Tabla 10)
- **Edad y sexo:** Estas variables no se relacionaron con distinta evolución radiológica, obteniéndose cifras similares en hombres y mujeres y en menores y mayores de 60 años:

		Remisión radiológica al año	p
Sexo	Hombre	71.9%	0.315
	Mujer	83.3%	
Edad	<60 años	77.5%	0.841
	≥60 años	75%	

Tabla 7. Remisión radiológica en función de edad y sexo

- **Resultados inmunohistoquímicos (Ki-67):** contamos con la importante limitación de que la IHQ se efectuó en un muy pequeño porcentaje de pacientes, no parecía atisbarse relación entre el resultado de la misma (índice de proliferación Ki-67) y la evolución radiológica: las tasas de remisión fueron similares (83.3% vs 81.3%, p=0.910).

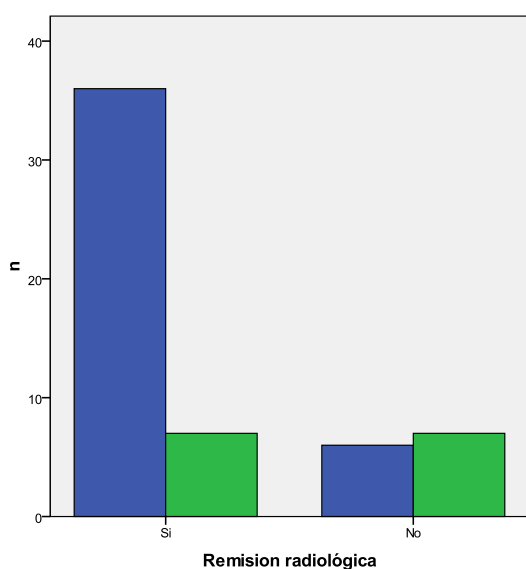


Tabla 8. Remisión radiológica relacionada con la cefalea

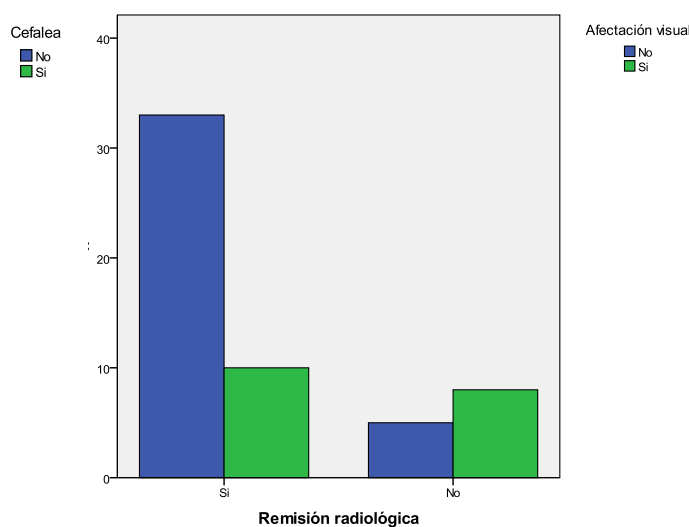


Tabla 9. Remisión radiológica relacionada con afectación visual

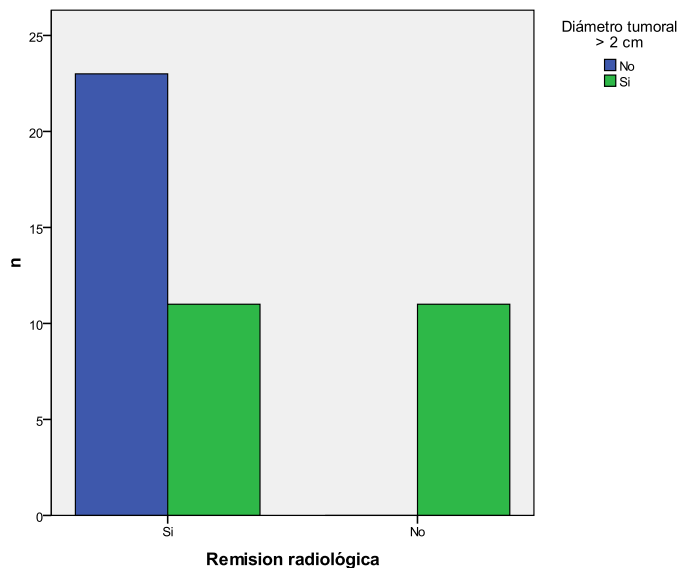


Tabla 10. Remisión radiológica según tamaño

Evolución bioquímica: Se consiguió controlar la hiperproducción hormonal en el 68% de los pacientes con AHF intervenido (17/25). (Tabla 11)

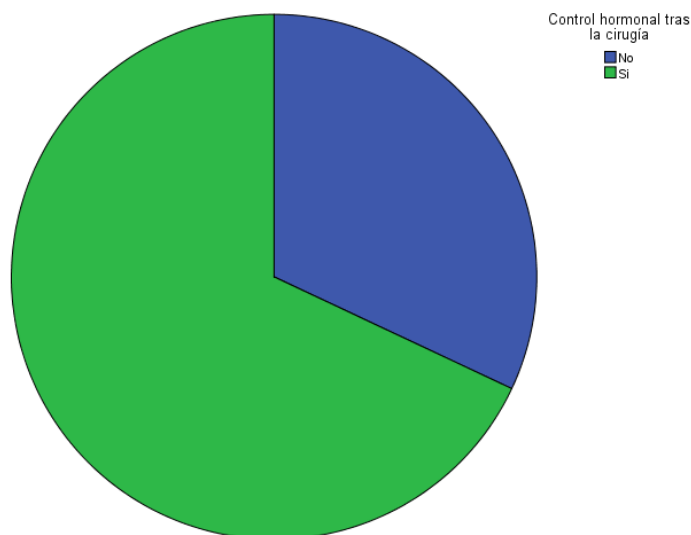


Tabla 11. Remisión de la hiperproducción hormonal

En cuanto a las alteraciones hormonales que persistían al año de la cirugía las proporciones son las siguientes (Tabla 12):

- Hipocortisolismo: 41.9% (26/62) *en un paciente no se pudo valorar por imposibilidad de retirada del tratamiento corticoideo crónico por un proceso linfoproliferativo.
- Hipotiroidismo: 27% (17/63)
- Hipogonadismo: 36.5% (23/63)
- Déficit de GH: 11.1% (7/63)
- Hiperprolactinemia de desconexión: 6,3% (4/63)
- Diabetes insípida: 7.9% (5/63)
- Hiperproducción hormonal: 12.7% (8/63)

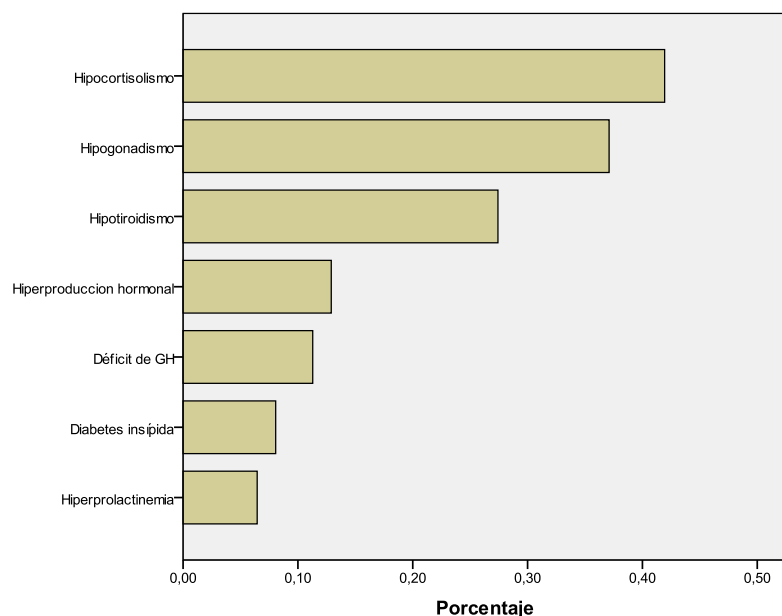


Tabla 12. Recuperación de ejes tras la cirugía

Haciendo una comparativa entre los ejes deficitarios pre y post quirúrgicos encontramos que:

- Las cifras de hipocortisolismo aumentaron un 12.9% (29→41,9%)
- El porcentaje de pacientes con hipotiroidismo descendió un 3% (29→27%)
- La cifra de hipogonadismo descendió un 7% (43.5→36.5%)
- El déficit de GH un 3.4% (14.5→11.1%)
- El mayor descenso lo experimentaron las hiperprolactinemias de desconexión con un 27% pasando de un 33.3→6.3%
- La DI creció un 7.9% pasando de 0 casos a 5 como ya se comentó anteriormente

Eje afecto	Prequirúrgico	Postquirúrgico
Hipocortisolismo	29%	41.9%
Hipogonadismo	43.5 %	36.5%
Hipotiroidismo	29%	27%
Déficit GH	14.5%	11.1%
Hiperprolactinemias de desconexión	33.3%	6.3%
DI	0%	7.9%

Tabla 13. Diferencia de porcentaje de ejes afectados pre y postquirúrgicos

Tratamientos adyuvantes: 7 pacientes (10.1%) recibieron tratamiento con radioterapia, en tanto que en 10 pacientes (14.5%) fue preciso tratamiento farmacológico tras la cirugía en vistas a controlar la progresión del tumor y/o la producción hormonal:

- Cabergolina (agonista dopaminérgico): 6 pacientes (8.7%)
- Análogos de somatostatina: 3 pacientes (4.3%)
- Cabergolina + análogo de somatostatina: 1 paciente (1.4%)

Estudio Molecular

Presentar los datos del estudio molecular no es el propósito de esta memoria. El propósito de esta memoria ha sido analizar la casuística clínica desde la puesta en marcha del REMAH y engranar los procedimientos para vehicular la muestra tumoral desde el quirófano hasta el IMIBIC de Córdoba en el tiempo en que estuvo implicada en este estudio. Los datos moleculares se están analizando en el IMIBIC de Córdoba y aún no están completos.

Discusión

En el momento actual, el REMAH-Canarias está plenamente incorporado al registro de datos nacional e incluye pacientes provenientes del HUNSC, del HUC y del Hospital Insular en Las Palmas de Gran Canaria. Ha sido esencial el engranaje de los equipos de Endocrinología de los 3 centros hospitalarios con los equipos de Neurocirugía del HUNSC y del HUC. La mayor parte de pacientes en nuestra serie provienen del HUNSC (64/69, 92,8 % de la muestra), donde hay una gran implicación por parte de Neurocirugía/ORL y el Equipo de Enfermería. También ha sido esencial la participación de los estudiantes de TFG (los que iniciaron el REMAH y los que nos hemos implicado en su mantenimiento y continuidad de futuro) y la colaboración de la Licenciada en Biología M^a Teresa Arce para que este proyecto haya sido factible. El Instituto Maimónides de Investigación Biomédica (IMIBIC) está estudiando los datos moleculares, que serán objeto de otro trabajo.

Desde el inicio del REMAH-Canarias en el año 2014 hasta la fecha se han conseguido recabar 69 pacientes con sus correspondientes datos clínicos, analíticos, radiológicos y anatomopatológicos además de la pieza tumoral para estudio molecular en el nodo. Los pacientes tenían una edad media de 53.2 ± 14 años, siendo predominantemente varones el 56.5%.

El objetivo de nuestro trabajo fue recoger todas las variables clínicas de los pacientes estudiados antes de la cirugía y al año de la misma, e incluirlos en la base REMAH, así mismo obtener un pequeño fragmento tumoral que se envía al Instituto IMIBIC de la Universidad de Córdoba donde están realizando el estudio molecular. En este último año se ha logrado:

- Implementar y agilizar el circuito de obtención-envío de la muestras, de tal forma que pasan un máximo de 72 h desde la fecha de la cirugía hasta su recepción en el IMIBIC. Esto permite tener más cantidad de muestras y que sean de mayor calidad para el estudio de expresión de genes. En años pasados, los retrasos en los envíos resultaban en muestras con poco tejido y baja calidad.
- Actualizar la base de datos del registro nacional (que precisó iniciar una nueva plataforma). De forma paralela, se ha creado una base de datos Excel local con toda la información antes descrita en material y métodos, a la que ir incorporando nuevos pacientes y sobre la que basar futuros estudios cada vez de mayor potencia. A lo largo de este curso, se han incorporado 2 nuevas estudiantes de TFG, que continuarán en el mantenimiento del proyecto hasta final del curso próximo.

Aunque en la literatura se recoge que los AH más frecuentes son los prolactinomas (1,2); es lógico que en nuestra serie la gran mayoría sean macroadenomas (91,3%) no funcionantes (60,8%) ya que se recogen pacientes que van a ser sometidos a cirugía y el tratamiento habitual del prolactinoma es médico. El resto (39,1%), fueron tumores funcionantes, siendo la hiperproducción hormonal más frecuente la acromegalia (20,3%), seguida del Cushing (7,2%). Los estudios de expresión de receptores son especialmente interesantes para este grupo de tumores y cuando dispongamos de ellos, podríamos seleccionar el tratamiento más adecuado en caso de persistencia de masa tumoral o actividad hormonal (la expresión de un receptor implica posibilidad de iniciar un tratamiento especialmente dirigido hacia él, sin necesidad de actuar de forma empírica). Tenemos un 5.8% de prolactinomas (4/69), que como se acaba de comentar es debido a que esta es una serie quirúrgica.

Respecto a la clínica, un 23.2% (16/69) de la muestra presentaba cefalea que ha sido señalada tras una revisión bibliográfica como la manifestación clínica más frecuente en estos tumores. No obstante, en nuestro análisis la manifestación clínica más prevalente ha sido la afectación visual representando un 30.4% (21/69). Esta aunque puede ser imperceptible por el paciente es valorada de forma protocolaria por el Servicio de Oftalmología.

Se correlacionó el tamaño tumoral con la tasa de recidiva radiológica al año de seguimiento, presentando tasas mayores los AH > 2 cm (50% vs 100%; $p < 0.001$). La presencia de clínica derivada del efecto masa (cefalea y alteración campimétrica) ensombrecían el pronóstico de remisión del cuadro (50% vs 85.7%, $p = 0.006$; 55.6% vs 86.8%, $p = 0.010$). Estos datos confirman lo que de forma intuitiva detectamos en la práctica clínica: en tumores grandes y con efecto masa es más difícil conseguir la remisión completa. Ampliar la base de pacientes nos permitirá obtener puntos de corte más precisos y tal vez, orientarnos al tratamiento coadyuvante precoz en aquellos con alto riesgo de recidiva. El estudio molecular de la pieza tumoral con el análisis de expresión de receptores nos permitiría personalizar el tratamiento.

En relación al hipotuitarismo preoperatorio, se observa que el orden de afectación de ejes hipofisarios es: gonadotropo > corticotropo = tiotropo > somatotropo, en contraposición a la idea de que el déficit de GH es el más frecuente seguido por el de gonadotropinas. (1, 7) En la muestra hay 0 casos de DI pre-quirúrgica mientras que la incidencia aumenta tras la intervención con 5 casos (7.9%), lo que cumple con la premisa de que la afectación neurohipofisaria es poco frecuente al diagnóstico y sí lo es post-operatoriamente. En base a esto, Mercado et al (7) cifran esta complicación entre un 15-30% de forma transitoria e incluso entre un 5-10% de forma permanente. En el presente estudio se evaluó la persistencia de DI tras 1 año de cirugía no contando con el post-quirúrgico inmediato.

La técnica quirúrgica de elección es la CTE. La complicación más frecuente registrada fue de tipo infeccioso: 7.2% de meningitis y 4,3% de otra clase, tipo infección de la herida quirúrgica. La vía transcraneal se reserva para casos de configuración desfavorable de la silla turca, importante expansión tumoral con invasión del seno cavernoso (proximidad de carótidas), hacia la fosa media o en intervenciones fallidas por técnica anterior. Sólo 2 pacientes de la serie fueron intervenidos por craneotomía pterional y en ellos se asociaron las únicas secuelas neurológicas del estudio (afasias, hemiparesia y epilepsia). Esta técnica se asocia a un mayor número de complicaciones.

De nuevo, *Mercado et al (7)* cifraron que la mortalidad de la primera técnica (CTE) puede alcanzar el 1% mientras que la vía transcraneal refleja hasta un 6%, por lo que se debe reservar para circunstancias excepcionales como las anteriormente citadas. Antes se comentaba que la afectación de la neurohipófisis era más frecuente en el postquirúrgico pudiendo encontrar DI tanto transitoria como permanente, pero también es importante reseñar la posibilidad de presentar la complicación contraria: SIADH post-quirúrgico, registrado en un 2.9% de la muestra (2 pacientes).

La anatomía patológica se realizó en todos los casos, lo que nos indica que la recogida de fragmento tumoral para nuestro estudio fue segura y no interfirió con las normas de buena práctica clínica. La AP calificó de AH al 89.9% de las muestras, hablando en un 4.3% de adenomas eosinófilos conforme a la clasificación antigua de los adenomas en función de su histología por tinción (hematoxilina-eosina). Sin embargo, sólo se realizó IHQ para Ki-67 en el 34.8% de las muestras, de ellas el 33.3% tenían un índice proliferativo muy alto (>3%) para corresponder a un AH. Sólo 1 de los AH (1.4%) fue catalogado como atípico por AP en relación con un Ki67 del 5% y p53 +. Se ha relacionado el índice >3% por lo que la OMS añade en sus recomendaciones generales el seguimiento estrecho de tumores con un índice proliferativo tan elevado (1). Diversos estudios han encontrado diferencias significativas para la recidiva en cifras inferiores: *Hasanov, R et al (14)* en >2.5% y *Chiloiro S et al (15)* incluso en >1.5%. Estos resultados sugieren la posible necesidad de analizar la IHQ para Ki67 en todas las piezas remitidas a AP para definir un punto de corte que pueda indicar menos probabilidad de remisión e iniciar por ejemplo tratamiento coadyuvante precoz. Además, sería interesante estudiar si la expresión de Ki67 a nivel molecular se ajusta a la determinada por IHQ. Se pretende indagar en este punto en los próximos 2 años con los nuevos alumnos de TFG.

Del seguimiento anual post-quirúrgicos se puede concluir que los ejes con mayor afectación fueron: corticotropo >gonadotropo >tirotropo >somatotropo. Sin embargo presentaron recuperación: TSH del 3%, FSH/LH 7%, GH 3.4% y espectacularmente las hiperprolactinemias de desconexión 27%. El % de DI creció como se comentó anteriormente, dado que en el preoperatorio no había ningún caso. El porcentaje de pacientes con hipocortisolismo aumentó un 12.9%, alcanzando el 41.9% de los pacientes del estudio. Según nuestros resultados y haciendo una revisión bibliográfica parece ser que el déficit de ACTH es el que tiene menos probabilidades de recuperarse tras la cirugía. La revisión de *Mercado et al (7)* añade la conclusión de diversos estudios que hablan de un % de mejoría más importante que el hallado en nuestro estudio para ejes como el tirotropo (12-32%) y similar para el gonadotropo (4-11%).

El porcentaje de curación quirúrgica de los AHF fue del 70,37%, (19/27) iniciales. Los 8 restantes necesitaron tratamiento farmacológico posterior logrando un adecuado control clínico, por lo que se podría comentar que aunque la cirugía no logró la remisión sirvió para la reducción de la carga tumoral (como técnica debulking). Los prolactinomas fueron los tumores con menos curación quirúrgica, lo que concuerda con que sea técnica de segunda línea: 2/4 (50%) prolactinomas puros requirieron control farmacológico postquirúrgico coincidiendo con macroadenomas mayores de 2 cm, uno de ellos clasificado por AP como AH atípico; 2/4 de los mixtos -los únicos con hiperprolactinemia- persistieron también con esta. *Sudan Thapa et al (16)*, respecto al pronóstico de los prolactinomas intervenidos, comentan un elevado porcentaje de recurrencias del 17% en micro y del 50% en macroadenomas, lo que está en relación con la posible invasión tumoral al diagnóstico, las cifras de prolactina y la resección

incompleta. En este caso la extensión al diagnóstico y la atipia habrá contribuido a la no curación. El estudio de Ki67 podría ser especialmente relevante en estos prolactinomas agresivos que precisan cirugía y que recidivan tras la misma. Mantener activo el registro REMAH permitirá contar con más pacientes de este tipo, con un seguimiento más prolongado y un estudio molecular con análisis de marcadores de proliferación y expresión de receptores que nos enfoquen a conclusiones más robustas y ulteriormente a una medicina más personalizada.

De las acromegalias intervenidas en el HUC 4/5 necesitaron tratamiento farmacológico posterior con análogos de somatostatina en monoterapia y terapia combinada. En cambio todos los GHomas puros o mixtos intervenidos en HUNSC fueron curados únicamente con cirugía, lo que permite entrever una mayor eficacia quirúrgica en probable relación con un mayor número de cirugías hipofisarias.

Menos de un 3% de los AH serán debidos a un MEN1 (17). En nuestra serie hay un paciente con este diagnóstico, en concreto un microadenoma productor de GH sin datos de recidiva desde 2013. Se estima que la prevalencia de estos tumores en la población con este síndrome de Wermer está en torno al 30-42% (17, 18). Además se ha relacionado con una mayor proporción de AHF (7); en concreto Bruno Vergés et al (18) en su revisión hablan de un predominio claro de prolactinomas. Los AH en este contexto se han relacionado con un mayor agresividad, mayor tamaño tumoral y peor respuesta al tratamiento. El diagnóstico precoz en estadio de microadenoma es clave para la curación (17, 18). El seguir activos en la base REMAH y compartir datos de otras zonas de España de asociaciones raras como esta, nos permitirá demostrar evidencia al poder contar con números elevados de casos.

Conclusiones:

Se ha cumplido nuestro objetivo primario:

- ✓ Iniciar el aprendizaje en investigación clínica contribuyendo al mantenimiento y mejoría del proyecto REMAH- Canarias, así como realizar el análisis de nuestra casuística desde que se inicia el registro.
- ✓ Los AH son tumores que requieren un abordaje multidisciplinar, por lo que para el correcto funcionamiento del proyecto ha sido esencial la coordinación de los equipos de Endocrinología y Neurocirugía de diferentes centros, además de la implicación activa del alumno del TFG.

También se han conseguido los objetivos secundarios

:

- ✓ Recoger las características clínicas basales (síntomas, radiología y analítica) de los pacientes con AH que van a ser intervenidos quirúrgicamente para su registro en la base REMAH. La gran mayoría de AH intervenidos son macroadenomas no funcionantes, hay un pequeño número de prolactinomas dado que se trata de una serie quirúrgica.
- ✓ Relacionar la recurrencia tumoral con características clínicas iniciales como el tamaño tumoral (>2 cm) y la presencia de clínica por compresión: cefalea y

defectos campimétricos. Un índice Ki67>3% podría asociarse con menores tasas de curación en hiperproducción hormonal. La edad, el sexo y el tipo de tumor no se relacionaron con la evolución radiológica tras la cirugía.

- ✓ Realizar la correcta vehiculación de las muestras de los AH desde el quirófano hasta su recepción en el IMIBIC (Universidad de Córdoba), donde se está procediendo al estudio molecular. Se han logrado acortar los tiempos hasta la recepción en el nodo (máximo de 72h), lo que asegura una buena calidad del tejido para su estudio ulterior.
- ✓ Se ha realizado el estudio anatomopatológico en el 100% de los casos y se ha confirmado su diagnóstico en cerca del 90% de ellas (el restante eran otras variantes tumorales).
- ✓ Se ha detectado un área de mejora en la determinación IHQ para Ki67. Aumentar el porcentaje de realización de IHQ en las muestras tumorales podría alertarnos de una mayor probabilidad de recurrencia y en consecuencia, actuar de forma más agresiva desde el inicio. Esta medida se está poniendo en marcha y se complementará con los datos moleculares.

Mantener activo el REAMH-Canarias ampliando el número de pacientes, y tener la posibilidad de compartirlo con otras series del territorio nacional, aportará evidencias más robustas para nuestra práctica clínica. Disponer de los datos moleculares, nos permitirá afianzar diagnósticos, valorar puntos pronósticos y elaborar tratamientos personalizados.

¿Qué he aprendido con el TFG?

Gracias a la realización de este Trabajo de Fin de Grado he podido adquirir una serie de conocimientos y habilidades en investigación clínica y traslacional que no se hubiesen obtenido en clases teóricas. En primer lugar, en la aplicación del método científico, partiendo de la formulación de un problema, se ha podido encontrar y seleccionar la información relevante sobre el tema a investigar, trabajar con la hipótesis y formular nuevas preguntas. En este proceso ha sido esencial la revisión de la literatura más actual acerca del tema para compararla con hallazgos asociados y llegar a nuestras propias conclusiones. De igual forma, he aprendido a trabajar con bases de datos en las que la organización y claridad de los mismos es esencial para poder llevar a cabo un adecuado análisis estadístico. Uno de los valores más importantes inculcados en este proyecto ha sido la preservación de la confidencialidad de los pacientes, haciendo siempre uso de códigos para registrarlos en nuestras bases.

A su vez, he podido comprender la gran implicación que supone unirse a un estudio científico, la inversión de tiempo e interés que se necesita. Mi experiencia ha sido de dos años recogiendo muestras e información clínica de pacientes para luego realizar el estudio de la muestra aquí presentado. Esto se suma al trabajo de otros compañeros de años anteriores y a la implicación de diferentes servicios, lo que ha permitido finalmente tener una amplia base de datos sobre la que trabajar. La colaboración de forma multidisciplinar es necesaria para dar respuesta a grandes proyectos.

Es un trabajo de largo recorrido en el que misiones sencillas (como por ejemplo, la recogida de muestras en buen estado) tienen que ser realizadas correctamente ya que sino se convierten en un factor limitante de un estudio prometedor.

Por último, he comprobado la necesidad de que los profesionales se impliquen en proyectos de investigación para poder aportar soluciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas a nuestros pacientes: sin investigación no hay práctica clínica. Los tratamientos actuales se centran cada vez más en la medicina individual de la que aún queda mucho por conocer.

El aprendizaje adquirido con la realización del TFG ha sido enriquecedor y espero haber sabido capaz de plasmarlo en esta memoria de la mejor forma posible.

Bibliografía

Por orden de mención:

- (1) Rojas, D. (2017). MANEJO DE LOS TUMORES DE HIPÓFISIS. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(3), pp.409-419.
- (2) Iglesias, P., Arcano, K., Triviño, V., García-Sancho, P., Díez, J., Cordido, F. and Villabona, C. (2019). Non-functioning pituitary adenoma underwent surgery: A multicenter retrospective study over the last four decades (1977–2015).
- (3) Ibáñez-Costa, A., Gahete, M., Rivero-Cortés, E., Castaño, J. Et al (2015). In1-ghrelin splicing variant is overexpressed in pituitary adenomas and increases their aggressive features. *Scientific Reports*, 5(1).
- (4) Luque, R., Ibáñez-Costa, A., Sánchez-Tejada, L., Rivero-Cortés, Castaño, J. et al (2019). El Registro Molecular de Adenomas Hipofisarios (REMAH): una apuesta de futuro de la Endocrinología española por la medicina individualizada y la investigación traslacional.
- (5) Lopez de Vergara Fuentes, M. (2018). Activación del Registro Molecular de Adenomas Hipofisarios en Canarias. [Trabajo de Fin de Grado] Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife.
- (6) Drummond JB, e. (2019). Non-Functioning Pituitary Adenomas. PubMed NCBI. Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30521182>.
- (7) Mercado, M., Melgar, V., Salame, L. and Cuenca, D. (2017). Clinically non-functioning pituitary adenomas: Pathogenic, diagnostic and therapeutic aspects. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)*, 64(7), pp.384-395.
- (8) Batista, R., Trarbach, E., Marques, M., Cescato, V., da Silva, G., Herkenhoff, C., Cunha-Neto, M. and Musolino, N. (2018). Nonfunctioning Pituitary Adenoma Recurrence and Its Relationship with Sex, Size, and Hormonal Immunohistochemical Profile. *World Neurosurgery*, 120, pp.e241-e246.
- (9) Sanchez-Tejada, L., Sanchez-Ortiga, R., Lamas, C., Camara, R., et al (2017). Contribution of molecular analysis to the typification of the non-functioning pituitary adenomas. *PLOS ONE*, 12(7), p.e0180039.
- (10) Gilsanz, A., Moreno, B., Obiols, G., Zugasti, A., Català, M., et al (2006). Guía clínica del diagnóstico y tratamiento de los tumores hipofisarios no funcionantes y gonadotropinomas. *Endocrinología y Nutrición*, 53(1), pp.13-18.
- (11) Rai, U., Thrimawithana, T., Valery, C. and Young, S. (2019). Therapeutic uses of somatostatin and its analogues: Current view and potential applications.
- (12) Luque, R., Ibáñez-Costa, Castaño, J. et al (2013). A Cellular and Molecular Basis for the Selective Desmopressin-Induced ACTH Release in Cushing Disease Patients: Key Role of AVPR1b Receptor and Potential Therapeutic Implications. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(10), pp.4160-4169.

- (13) Yang, Q. and Li, X. (2019). *Molecular Network Basis of Invasive Pituitary Adenoma: A Review*. *Frontiers in Endocrinology*, 10
- (14) Hasanov, R., Aydođan, B., Kiremitçi, S., Erden, E. and Güllü, S. (2019). *The Prognostic Roles of the Ki-67 Proliferation Index, P53 Expression, Mitotic Index, and Radiological Tumor Invasion in Pituitary Adenomas*. *Endocrine Pathology*, 30(1), pp.49-55. <https://doi.org/10.1007/s12022-018-9563-2>
- (15) Chiloiro S, Doglietto F, Trapasso B, Iacovazzo D, et al (2015) *Typical and atypical pituitary adenomas: a single-center analysis of outcome and prognosis*. *Neuroendocrinology* 101 (2):143–150. <https://doi.org/10.1159/000375448>
- (16) Thapa, S. and Bhusal, K. (2019). *Hyperprolactinemia*. [online] [Ncbi.nlm.nih.gov](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537331/). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537331/> [Accessed 10 May 2019].
- (17) Thakker, R. (2019). *Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and type 4 (MEN4)*.
- (18) Vergès, B., Boureille, F., Goudet, P., Murat, A., Beckers, A., Sassolas, G., Cougard, P., Chambe, B., Montvernay, C. and Calender, A. (2002). *Pituitary Disease in MEN Type 1 (MEN1): Data from the France-Belgium MEN1 Multicenter Study*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(2), pp.457-465.

Aceptación del tutor

Trabajo Fin de Grado Conformidad para la presentación de la memoria y defensa

El/Los Prof(s). JUDITH LOPEZ FERNANDEZ y JOSE G. OLIVA la
tutor(a) y cotutor(a), respectivamente del trabajo realizado por el(los) alumno(s)
.....
con el título "RESISIVO MOLECULAR DE ADENOMAS HIBRIDOS EN CANAL"
damos nuestra aprobación para la presentación de la memoria y a su defensa como NO
Trabajo Fin de Grado.

La Laguna, A 17/052010

Firmado: 

Firmado: 