



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MEDICAS
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA "MANUEL VELASCO
SUAREZ"
NEUROCIRUGÍA

**DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE ENDOPLASMINA (HSP90 B1) EN
ADENOMAS HIPOFISIARIOS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
JAIME JESÚS MARTÍNEZ ANDA

TUTOR(A) DE TESIS: MTRA. LESLY AMINTA PORTOCARRERO ORTÍZ

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA MANUEL VELASCO SUAREZ

MÉXICO, D.F. A 19 DE NOVIEMBRE 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CO - TUTOR

Dra. Alma Ortiz Plata
Jefa del Laboratorio
De Patología Experimental
Edificio de Investigaciones Cerebrales
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
Manuel Velasco Suarez

FIRMAS DE AUTORIZACIÓN

Dra. Lesly Aminta Portocarrero Ortiz
Tutora

Programa de Maestría en Ciencias Médicas
Posgrado UNAM
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

Dr. Jaime Jesús Martínez Anda
Alumno de Maestría

Programa de Maestría en Ciencias Médicas
Posgrado UNAM
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

ÍNDICE

a. Introducción	Pág. 6
b. Pregunta de investigación	Pág. 17
c. Hipótesis	Pág. 17
d. Justificación	Pág. 17
e. Objetivo	Pág. 18
f. Metodología	Pág. 20
g. Resultados	Pág. 30
h. Discusión	Pág. 48
i. Conclusión	Pág. 61
j. Bibliografía	Pág. 62

RESUMEN DE LA INVESTIGACIÓN PROPUESTA:

Los adenomas hipofisarios (ADH) representan lesiones neoplásicas frecuentes del Sistema Nervioso Central (SNC); histopatológicamente se les consideran lesiones benignas, sin embargo, su localización y comportamiento clínico variable las hace lesiones de tratamiento difícil y con resultados terapéuticos no siempre óptimos.

El manejo de elección en la mayoría de estas lesiones es el quirúrgico y como tratamientos coadyuvantes, algunos medicamentos y radioterapia en diferentes modalidades. La clasificación de la OMS toma en cuenta el patrón de secreción y su repercusión clínica para clasificarlos en ADH funcionantes y no funcionantes; además toma en cuenta patrones inmunohistoquímicos para clasificarlos en típicos y atípicos como factor pronóstico de su evolución posterior al tratamiento quirúrgico.

Se ha determinado por técnicas de inmunohistoquímica que la presencia de proteína Ki 67 y la p53 son factores presentes en lesiones atípicas con altos índices de recidiva y de invasión a estructuras adyacentes. En los últimos años se ha desarrollado la técnica de análisis proteómico para evaluar el proteoma celular en lesiones neoplásicas respecto a su contraparte histológica normal.

La expresión de HPB90 B1 (endoplasmina) en alguno tipos de cáncer, por ejemplo, en cáncer de mama, esta relacionada al grado de agresividad clínica de lesiones neoplásicas en otros sitios de la economía corporal, siendo este el primer estudio al respecto en lesiones primarias del SNC.

La Endoplasmina es un marcador bioquímico citoplasmático independiente en Adenomas Hipofisarios, que no tiene relación al comportamiento clínico de la lesión respecto a su Agresividad e Invasividad. Tampoco se relaciona con otros marcadores nucleares de proliferación celular como Ki – 67.

INTRODUCCIÓN

ADENOMAS HIPOFISIARIOS

Los adenomas hipofisarios se tratan de lesiones tumorales de estirpe clásicamente considerada como benigna, cuyo sitio de origen se ubica en la adeno – hipófisis o hipófisis anterior. Son lesiones que representan del 10 al 15% de todas las neoplasias intracraneanas del Sistema Nervioso Central (SNC). Son la tercera causa más común de neoplasias primarias del SNC; en Estados Unidos de Norteamérica tienen una incidencia anual de 8.2 a 14.7 por 100(1). En el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suarez” representan la 2da causa más frecuente de tumores primarios del SNC. Así mismo, son la causa más común de anormalidad funcional pituitaria.

Pueden aparecer en todos los grupos etarios, siendo la edad pico de presentación entre la tercera y la sexta década de la vida. En general, los tumores funcionales tienden a ser más comunes en adultos jóvenes, y las lesiones no funcionales en pacientes de mayor edad. Los tumores hipofisarios son menos comunes en la población pediátrica, representando sólo el 2% de las lesiones primarias del SNC en este grupo etario. Se ha encontrado predisposición genética de tumores pituitarios en los pacientes con síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN 1), representando estos solo el 3 % del total de los pacientes con tumores hipofisarios.

Se pueden clasificar en funcionales y no funcionales de acuerdo a su producción hormonal; los prolactinomas representan la variedad mas común de tumores funcionales, siguiendo con los tumores productores de Hormona del Crecimiento (GH) y Hormona Corticotropa (ACTH). Los adenomas no funcionales pueden ser secretores de Hormona Folículo estimulante (FSH) o Luteinizante (LH) y no dar manifestaciones clínicas por su producción hormonal o ser verdaderamente tumores no secretores de hormonas.

Cuadro clínico asociado a tumores de hipófisis

Los adenomas hipofisarios condicionan un cuadro clínico asociado a 2 factores:

- Consecuencias compresivas de la lesión por efecto de masa: por su localización, estas lesiones ocasionan compresión sobre estructuras adyacentes importantes: su crecimiento dorsal hacia las cisternas supraselares ocasiona compresión de la vía visual, principalmente hacia el quiasma óptico, que en etapas tempranas se manifiesta como el defecto campimétrico clásico asociado a lesiones de la región selar, presentándose el paciente con una hemianopsia heterónima bitemporal; cuando la lesión avanza de tamaño, este defecto campimétrico se agrava, y en etapas más tardías en su evolución ocasiona también consecuencias en la Agudeza visual, que puede llegar incluso a la amaurosis. El efecto de masa que tiene la lesión sobre las estructuras del III ventrículo ocasiona alteraciones en la dinámica del Líquido Cefalo-raquídeo, que puede llegar hasta la Hidrocefalia obstructiva, lo cuál se manifiesta como un síndrome de Hipertensión Intracraneal (Cefalea, papiledema y vomito en proyectil) y es una urgencia quirúrgica. Además el efecto de masa por si mismo ocasiona en algunos pacientes una cefalea crónica que avanza en intensidad y frecuencia al avanzar el tamaño de la lesión. La invasión al seno cavernoso puede manifestarse con déficits neurológicos asociados a parálisis de los nervios craneales que controlan los movimientos de los músculos oculares (III, IV y VI), condicionando diplopía en el paciente.
- Consecuencias Hormonales de la lesión: la glándula Hipófisis, junto con el Hipotálamo, constituyen el centro neuroendocrino de regulación de la mayoría de las funciones hormonales del organismo. A través del eje hipotálamo hipofisiario se controla la función sexual y reproductiva, la función tiroidea, la secreción de cortisol en las glándulas suprarrenales, el crecimiento corporal a través de la hormona del crecimiento y la producción láctea en las glándulas mamarias a través de la prolactina; así mismo se controla el equilibrio hidro-electrolítico a través de la hormona antidiurética y la contracción uterina y secreción láctea a través de la oxitocina. Todas estas funciones pueden verse afectadas tanto por el crecimiento de la lesión y su efecto compresivo a la glándula normal y el hipotálamo, como por la sobre producción de alguna de estas hormonas en lesiones funcionantes.
- Apoplejía pituitaria: esta se produce por una hemorragia espontánea intratumoral, lo cuál se manifiesta como un síndrome de hipertensión intracraneal, un déficit visual

agudo o un Evento Vascular Cerebral por compresión de las Arterias Carótidas Internas. Constituye una urgencia quirúrgica.

Clasificación

Clasificación de acuerdo a su producción hormonal

Los adenomas de hipófisis se pueden clasificar como lesiones Funcionales o No Funcionales, de acuerdo al patrón de secreción hormonal y a las consecuencias de esta. Las lesiones No Funcionales pueden no secretar ninguna hormona, o secretar FSH, LH o porciones de alguna otra hormona, sin consecuencias o manifestaciones clínicas asociadas a esta. En el caso de las lesiones Funcionales, estas se clasifican en:

- Prolactinomas: Adenomas Hipofisarios secretores de Prolactina (PLH); clínicamente condicionan el síndrome de Ahumada del Castillo, condicionando Amenorrea, Galactorrea e hipogonadismo; estas lesiones son candidatas a manejo médico al responder de forma adecuada a fármacos agonistas de Dopamina, como la Cabergolina y la Bromocriptina. Representan el 80% de las lesiones funcionales.
- Adenomas secretores de ACTH: lesiones secretoras de Hormona corticotropa, condicionando Enfermedad de Cushing, caracterizada por Hiper cortisolismo secundario, el cuál, ocasiona cambios físicos y fisiológicos importantes: obesidad centrípeta, estrías en piel, fascies de luna llena, giba grasa dorsal, astenia, adinamia, atrofia muscular, osteopenia, hiperglicemia o diabetes mellitus, e Hipertensión arterial principalmente resistentes a tratamiento, condicionando una disminución de por lo menos 15 a 20 años en la expectativa de vida de estos pacientes, además de una reducción significativa en la calidad de vida. Representan el 5 – 10% de las lesiones funcionales.
- Adenomas productores de GH: productoras de Hormona del Crecimiento, condicionando Acromegalia o gigantismo, de acuerdo a la edad de presentación; esto ocasiona crecimiento de los segmentos acrales del cuerpo, principalmente cara, pies y manos, con una fascies característica llamada acromegálica, y cambios fisiológicos, como resistencia a la insulina e Hipertensión arterial. Representan el 10 – 15% de las lesiones funcionales.

- Adenomas productores de TSH: son raros, condicionan un hipertiroidismo secundario, con los cambios característicos asociados a este. Representan < 1% de las lesiones funcionales.

Clasificación por imagen

El estudio de los pacientes con Adenomas Hipofisarios requiere una valoración de la lesión por imagen, tanto para el diagnóstico, como para la clasificación de la misma. Los estudios de imagen que se utilizan para evaluarlos son la Tomografía Axial Computada (TAC) y la Resonancia Magnética (IRM). La TAC aporta datos sobre la extensión de la lesión en sentido dorso – ventral, principalmente la erosión ósea que se presenta hacia la silla turca y el grado de invasión al seno esfenoidal; en México se trata de la modalidad de imagen más utilizada como estudio inicial por la accesibilidad que se tiene al mismo, y sirve tanto para diagnóstico, como para descartar alguna urgencia quirúrgica asociada a la lesión, como puede ser hidrocefalia o apoplejía hipofisaria; también nos aporta datos importantes acerca de la cavidad nasal y el seno esfenoidal para la planeación quirúrgica en caso de decidirse un abordaje transesfenoidal. El estudio de IRM es importante para la caracterización adecuada de la lesión, su relación con estructuras adyacentes, determinar si hay o no invasión principalmente a seno cavernoso y a estructuras cerebrales y del III ventrículo, el desplazamiento y afección de la vía visual y las relaciones vasculares que guarda la misma. Ambos estudios sirven para clasificar a la lesión de acuerdo a su tamaño en:

- Microadenomas: Lesiones < 10mm
- Macroadenomas: lesiones $\geq 10\text{mm}$ y $\leq 4\text{cm}$
- Adenomas Gigantes: Lesiones $\geq 4\text{ cm}$

También nos aportan datos necesarios para su clasificación de acuerdo a su relación e invasividad con estructuras adyacentes; se utilizan 2 clasificaciones, la clasificación de Hardy – Vezina y la de Knosp (ver anexo 1); en resumen una clasificación de Hardy – Vezina nos habla de la extensión supraselar de la lesión y la invasión intradural y de estructuras del III ventrículo (un grado $\geq C$ habla de invasión al III ventrículo), y de la extensión ventral hacia el seno esfenoidal (un grado $\geq III$ habla de invasión al seno

esfenoidal); la clasificación de Knosp nos habla de la extensión lateral e invasión al seno cavernoso de la lesión, y un grado ≥ 2 habla de invasión al seno cavernoso.

<i>Clasificación</i>	<i>Invasividad</i>
Hardy - Vezina	<ul style="list-style-type: none"> • Lesión no invasiva: < IIC • Lesión invasiva: \geq III C
Knosp	<ul style="list-style-type: none"> • Lesión no invasiva: grado ≤ 2 • Lesión invasiva: grado ≥ 3

Clasificación inmunohistoquímica

La clasificación histopatológica antigua de los adenomas de hipófisis los agrupaba en tres categorías: acidófilos, basófilos y cromófbos. Los acidófilos, eran exclusivamente productores de hormona de crecimiento; los basófilos, productores de ACTH; y los cromófbos, que no captaban hematoxilina ni eosina, creyéndose que eran no productores. En la actualidad esta clasificación simplista fue ampliada con el advenimiento de la microscopía electrónica y las técnicas de inmunohistoquímica que han podido mejorar sustancialmente su valoración en cuanto a producción hormonal. Así se han establecido 14 subtipos de adenomas (Tabla 1). El grado de agresividad de los adenomas no se relaciona con cambios estructurales, a diferencia de lo que sucede con otras lesiones neoplásicas como los astrocitomas en los que el pleomorfismo, la atipia nuclear, el incremento en la celularidad y la actividad mitótica son parámetros de agresividad tumoral; se ha encontrado que tiene mayor relación con el patrón de expresión protéica intracelular, el cual ha sido estudiado por inmunohistoquímica(2).

Clasificación histopatológica y por inmunohistoquímica de los ADH

Tipo de adenoma	Frecuencia	Tasa M:F	Caracterización inmunohistoquímica
Poco granulado PRL	27.0	1:2.5	PRL

Densamente granulado PRL	0.04	-	PRL
Densamente granulado GH	7.1	1:0.7	GH, subunidad α (PRL, TSH, LH, FSH)
Poco granulado GH	6.2	1:1.6	GH, PRL (subunidad α)
Mixto GH-PRL	3.5	1:1.1	GH, PRL (subunidad α , TSH)
Mamosomatotrofo	1.2	1:1.1	GH, PRL (subunidad α , TSH)
Células acidófilas	1.6	1:1.5	PRL, GH
Adenoma corticotrofo densamente granulado	9.6	1:5.4	ACTH (LH, subunidad α)
Adenoma corticotrofo poco granulado	Raro	-	ACTH
Adenoma del tirotrofo	1.1	1:1.3	TSH (GH-PRL, subunidad α)
Adenoma gonadotrófico	9.8	1:0.8	FSH (LH, subunidad α , ACTH)
Corticotrofo silente	4.9	1:1.3	ACTH, β -endotrofina)
No productor (nuncell)	12.4	1:0.7	Inmunonegativo
Oncocitomas	13.4	1:0.5	Inmunonegativo
No clasificable	1.8	-	-

Kovacs K, Horvath: Tumors of the pituitary gland, Atlas of tumor pathology, fascicle 21, 2nd series, Washington D.C. Armed forces institute of pathology .

Abreviaturas: PRL: prolactina, GH: Hormona de crecimiento, FSH: Hormona foliculo estimulante, LH: Hormona Luteinisante, TSH: Hormona estimulante de tiroides.

Marcadores celulares

Previamente han sido descritos múltiples indicadores que pueden ayudar a predecir el comportamiento de los adenomas de hipófisis. Un estudio publicado por Tella Junior y cols. encontraron que los adenomas bihormonales así como los productores de subunidad alfa eran mas invasivos que los otros tipos de adenomas. Otro estudio realizado por Schreiber y cols. mostró que en los adenomas de células nulas y en los oncocitomas existía una mayor presencia de Ki 67 a mayor agresividad clínica. Así mismo encontraron positividad para p53 en un porcentaje importante de los adenomas invasores. Hasta ahora la mayoría de los estudios están enfocados en describir la expresión y mutación de genes, así como la descripción de algunos marcadores de agresividad tumoral. La OMS (2004) divide a los adenomas hipofisarios de acuerdo a estos parámetros en(3):

<i>Grado Histopatológico</i>	<i>Parámetros</i>
Adenoma Típico	<ul style="list-style-type: none">• Sin datos histopatológicos de adenocarcinoma• Sin datos inmunohistoquímicos de Atipia
Adenoma Atípico	<ul style="list-style-type: none">• Índice mitótico ≥ 1 en mas de 10 campos a 400x• Factor de proliferación $\geq 3\%$ (Ki67)• P53 elevada $\geq 1\%$
Carcinoma de hipófisis	<ul style="list-style-type: none">• Histopatología para adenocarcinoma y metástasis

La secuenciación del genoma humano, la generación de bases de datos de proteínas(4) y los avances en la tecnología para estudiar los sistemas biológicos de una gran variedad de organismos, han revolucionado la biología y la medicina. Las secuencias de DNA de distintos organismos están disponibles en las bases de datos, sin embargo, las secuencias de genes dan una información incompleta sobre las propiedades de la expresión de proteínas en los diferentes organismos.

Adenomas hipofisarios agresivos

No existe en realidad una definición “oficial” de Adenoma Hipofisario Agresivo; el término se utiliza para lesiones con invasión a estructuras anatómicas adyacentes, crecimiento rápido y tamaño importante. Tienden a recurrir de forma rápida después del

tratamiento inicial, y generalmente responde poco al tratamiento, por lo que son difíciles de curar, y algunos incluso tienen un desenlace fatal. La invasión al seno cavernoso, estructuras óseas de la base del cráneo y mucosa del seno esfenoidal dificultan una cirugía radical. La invasión parece estar en relación al tamaño del tumor, de manera que se encuentra invasión a estructuras adyacentes en 80% de los adenomas gigantes (>4cm de extensión en al menos un plano), pero solo en 22% de los macroadenomas (>10mm en diámetro) y 2% de los microadenomas (< 10mm). Debido a su naturaleza agresiva, estos tumores deben someterse a regímenes más activos de tratamiento(2).

Pronóstico de los Adenomas Hipofisarios

Las clasificaciones antes mencionadas nos hablan del comportamiento biológico del adenoma de hipófisis y nos dan un pronóstico respecto al éxito del tratamiento inicial y la evolución posterior en cada paciente. En diferentes series se ha reportado un 80 – 96% de extensión supraselar y 30 – 80% de extensión infraselar; así mismo se reporta un 30 a un 64% de lesiones invasivas por imagen(5). Así mismo se reportan lesiones como microadenomas de un 20 a un 45% y macroadenomas de un 55 a un 80%. Se reporta así mismo Adenomas Gigantes en hasta un 30% de los casos. Se reportan grados Knosp > a 2 en un 20 a 40% de los casos; En cuanto a los parámetros histopatológicos e inmunohistoquímicos, de un 15 a un 20% de las lesiones se reportan como atípicas (3, 6, 7).

Todos estos factores influyen en la evolución de cada paciente sometido a un tratamiento; de forma que cada parámetro nos da un pronóstico:

- **Tamaño de la lesión como factor pronóstico:** En lesiones no funcionantes se reporta un éxito quirúrgico con lesiones menores a 4cm de un 75 a un 100% de los casos, mientras que en lesiones > a 4cm este porcentaje disminuye de un 56 a un 70% de los casos. Así mismo Se tienen índices de recurrencia de hasta un 10% en lesiones menores a 3cm, y hasta un 40% en lesiones de mayor tamaño(8).
- **Invasión a seno esfenoidal y III ventrículo** Se reporta un éxito quirúrgico de un 85 a un 100% en lesiones no invasivas, comparado a un éxito quirúrgico en 57 – 84% de las lesiones invasivas. Así mismo se reportan complicaciones postoperatorias en hasta un 25% de lesiones invasivas vs. Hasta un 10% en lesiones no invasivas. El índice de

recurrencia en lesiones invasivas se reporta hasta del 40%, comparado con un 15% en lesiones no invasivas(5).

- **Invasión al seno cavernoso como factor pronóstico:** Se menciona que se consigue una resección total o subtotal de un 80 a un 100% de los pacientes con lesiones grado < 3 de Knosp, mientras que se consigue una resección total o subtotal solo en un 56 – 80% de los casos con lesiones > a Knosp 3. Así mismo se reportan recurrencias de > 20% en lesiones con grados Knosp < 2, y > a un 40% en lesiones Knosp > 3. Así mismo el índice de complicaciones post – operatorias asociadas a lesiones Knosp > 2 es de hasta un 20%, comparada con lesiones de menor grado, que se reporta < a 10%(7, 9).
- **Factores histopatológicos e inmunohistoquímicos:** Se reporta que un 83% de las lesiones atípicas demuestran invasión a diferentes grados por IRM, comparado con un 45% de las lesiones típicas; se reporta así mismo que hasta un 11% de las lesiones invasivas tienen expresión elevada de Ki-67, comparado con 4.66% de las lesiones no invasivas. Se reporta recurrencia de hasta 56% en las lesiones atípicas, comparado con un 20% en las lesiones típicas(3).

PROTEÍNA HSP90B1 (ENDOPLASMINA)

Proteína HSP90 y su función celular

La proteína de choque de calor (Heat Shock protein, HSP) actúa como un tipo de chaperona, uniéndose a proteínas recién transcritas, ayudando al plegamiento de las mismas en el citosol, retículo endoplásmico; es importante en los mecanismos de transporte intracelular de algunas proteínas; y tiene funciones relacionadas a la reparación y replegamiento de proteínas, cuando estas sufren desnaturalización en sus estructuras secundarias y terciarias ante algún estrés celular; se trata de una proteína de 90kDa, que representa el 1 – 2% del contenido proteico intracelular en ausencia de estímulos de estrés. Existe en 2 isoformas principales, la alfa, que se encuentra en el cromosoma 14q32 – 33, y la isoforma beta, encontrada en el cromosoma 6p 21. La mayoría de las proteínas en las que actúa la HSP90 son proteínas cinasas o factores de transcripción involucradas en la

transducción de señales, receptores de hormonas esteroideas, serina/treonina cinasas como la Cdk-4 y Raf-1 y factores de transcripción como el p53. Dada la naturaleza de las proteínas en las que actúa el HSP90 facilita la supervivencia celular durante condiciones observadas en el microambiente del tumor(10, 11).

Proteína HSP90 como marcador de agresividad en diferentes lesiones neoplásicas

Resultados recientes de análisis de geles por técnicas de tecnología proteómica (resultados no publicados) a mostrado la sobre – expresión de HSP90B en ADH no funcionales que son considerados agresivos de acuerdo a los hallazgos de Resonancia Magnética, sugiriéndose que este puede ser empleado como marcador de invasividad y, probablemente, de recurrencia. Esta proteína, también llamada endoplasmina, ha sido encontrada en otras patologías malignas como marcador de agresividad de la lesión. Cawthorn y cols. llevaron a cabo un estudio evaluando la expresión proteómica de HSP90B utilizando 2-PAGE encontrando que pacientes con niveles mayores de HSP90B tenían mayor probabilidad de tener metástasis a distancia, comparados con pacientes con niveles bajos. Los niveles elevados de HSP90B predijeron la presencia de metástasis a distancia con una sensibilidad del 97%. También se ha encontrado sobre – expresión de HSP90B en células gástricas cancerosas, comparado con la mucosa gástrica normal y el tejido pancreático; esta expresión se vio aumentada en tejido gástrico menos diferenciado, sugiriéndose que la misma es útil no solo como marcador biológico de malignidad, sino que ha correlación con la agresividad de la lesión.

La expresión de HSP90 también ha sido descrita en leucemia linfoblástica aguda, y su patrón de expresión fue factor predictor para peor pronóstico(12, 13).

Técnicas de Proteómica aplicadas al estudio de Adenomas de Hipófisis

Aunque la función del organismo y lo necesario para realizarla reside en el ADN, no todos los genes son codificados en proteínas. Además una proteína puede sufrir hasta 400 modificaciones postraduccionales, por lo que el resultado final no necesariamente es una copia fiel del gen a partir del cual fue codificada. Por esta razón, actualmente el análisis exhaustivo de secuencias también se está aplicando a todas las proteínas (proteoma)

presentes en la célula, tejido u organismo completo en un momento particular. Este tipo de análisis ha confirmado que el proteoma es dinámico, que las proteínas cambian dependiendo del medio ambiente y estado fisiológico en que se encuentre el organismo y esta información está siendo aplicada a todos los campos de la biología y la medicina.

La proteómica se trata de una tecnología de punta que se encarga de estudiar el conjunto de proteínas que constituyen a los organismos, tejidos o células, comparando dos o más estados diferentes (tejido sano y enfermo), identificando cambios en las proteínas tanto cualitativos como cuantitativos. La posibilidad de estudiar la proteómica de una célula deriva del avance en los mecanismos de espectrometría de masas lo que permite la identificación de las secuencias de aminoácidos en las proteínas de interés.

Ya se han realizado algunos estudios los cuales tratan de dilucidar atlas de proteínas en adenomas de hipófisis, así como alteraciones en adenomas de hipófisis. Un estudio realizado por Liu y cols.(14) identificó un total de 2243 proteínas las cuales caracterizan al prolactinoma, siendo la base de datos más grande para este subtipo de adenomas. Moreno y cols. realizaron un estudio en el cual compararon adenomas hipofisarios no funcionales (n=11) contra 8 hipófisis normales (n=8), analizando la expresión de genes y el proteoma de dichos especímenes. En este trabajo se identificó que en los adenomas existían 115 puntos sobre-expresados y 169 suprimidos, en cuanto a la proteomica encontraron 21 proteínas sobrerreguladas y 29 proteínas subreguladas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El grado de expresión intracelular de Endoplasmina (HSP90) se relaciona con el patrón de agresividad e invasividad de los Adenomas Hipofisarios?

HIPÓTESIS

Hipótesis 1

H₁: El contenido intracelular de Endoplasmina (HSP90) en adenomas hipofisarios agresivos es mayor respecto a adenomas hipofisarios no agresivos.

H₀: El contenido intracelular de Endoplasmina (HSP90) en adenomas hipofisarios agresivos no es mayor respecto a adenomas hipofisarios no agresivos.

Hipótesis 2

H₁: El contenido intracelular de Endoplasmina (HSP90) en adenomas hipofisarios invasivos es mayor respecto a adenomas hipofisarios no invasivos.

H₀: El contenido intracelular de Endoplasmina (HSP90) en adenomas hipofisarios invasivos no es mayor respecto a adenomas hipofisarios no invasivos.

JUSTIFICACIÓN

Los Tumores Hipofisarios son una causa de morbilidad importante en la población general; representan la 3ra causa de Neoplasias intracraneales (la 2da en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía), además de ser una patología que afecta a pacientes jóvenes en edad productiva. Las secuelas asociadas a estas lesiones tienen un impacto importante en los pacientes, y un curso clínico y comportamiento biológico variable, hace prioritario en una institución como la nuestra, el estudio e investigación relacionada a estos tumores, ya que se cuenta con una casuística importante y es un centro de referencia internacional para su manejo. Los estudios de investigación respecto a estas lesiones deben enfocarse en el entendimiento de su biología, fisiopatología y tratamiento, aspectos que se cumplen en este protocolo; por lo tanto es importante tomar en cuenta el

desarrollo de protocolos como el presente, cumpliéndose con una necesidad, y una obligación científica y de salud, dado el impacto en la calidad de vida de los pacientes con tumores hipofisarios y el impacto importante que esto representa respecto a otros padecimientos del Sistema Nervioso.

Además, un punto importante también es la aplicación terapéutica que los hallazgos de este trabajo esperan aportar respecto al tratamiento de los adenomas hipofisarios, lo cuál hace aún mas importante el desarrollo de protocolos como el presente.

OBJETIVOS

- **Objetivo General**

1. Estudiar el grado de expresión intracelular de endoplasmina en Adenomas Hipofisarios y establecer si hay diferencia entre el grado de expresión de la misma en lesiones Invasoras y agresivas, respecto a las no invasoras y no agresivas.

- **Objetivos Específicos**

1. Establecer si hay relación entre el grado de expresión de Endoplasmina con Género y Edad de los Pacientes con Adenomas Hipofisarios.
2. Establecer si hay correlación entre el grado de expresión de Endoplasmina y el tiempo de evolución de la sintomatología
3. Establecer si hay correlación entre el grado de expresión de Endoplasmina y la expresión de Ki-67
4. Establecer si hay correlación entre el grado de Expresión de Endoplasmina y la expresión de marcadores hormonales intracelulares (Prolactina, Adrenocorticotropina, Hormona estimulante de la tiroides, Hormona del Crecimiento, Hormona Luteinizante y Hormona Folículo Estimulante)
5. Establecer si hay correlación entre el grado de Expresión de Endoplasmina y el comportamiento clínico - hormonal de la lesión en términos de Funcionalidad o No Funcionalidad de la misma.
6. Establecer si hay correlación entre el grado de lesión por imagen y el grado de expresión de Endoplasmina

7. Establecer si hay correlación entre el grado de Expresión de Endoplasmina y la probabilidad de recidiva tumoral
8. En pacientes que hayan recibido Radioterapia como manejo coadyuvante, establecer la correlación entre grado de expresión de Endoplasmina y la respuesta a este tratamiento.

METODOLOGÍA

a) Diseño

Se realizó un estudio observacional, transversal, comparativo.

b) Población

Muestras de biopsias obtenidas en el periodo trans – operatorio de la cirugía realizada a pacientes entre Enero Y Diciembre del 2008 cuyo resultado de histopatología fue el de adenoma hipofisiario.

c) Captación de la muestra

- Se realizó una revisión de los registros de muestras entregadas al servicio de Patología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, con diagnóstico de Adenoma Hipofisiario entre Enero y Diciembre del 2008
- Se obtuvieron los bloques de parafina de dichas muestras en el Servicio de Patología para revisión de las mismas y exclusión de aquellas insuficientes para procesamiento para Inmunohistoquímica
- En el Archivo Clínico de la institución se realizó la revisión de expedientes de los pacientes de donde provienen dichas muestras y exclusión de las muestras de pacientes con expedientes incompletos

Criterios de inclusión

1.- Muestras de Biopsia de pacientes operados entre Enero y Diciembre del 2008 con diagnóstico histopatológico de Adenoma Hipofisiario

Criterios de exclusión

- 1.- Muestras que sean insuficientes para la realización de la técnica de inmunohistoquímica
2. –Pacientes que hayan recibido manejo quirúrgico previo

Criterios de eliminación

- 1.- Pacientes que no cuenten con expediente clínico completo en el INNN

2.- Pacientes que no cuente con estudios de imagen por Resonancia Magnética preoperatoria.

Variables

Variable	Tipo de Variable	Escala de Medición
<i>Variables Clínicas y de Imagen Independientes</i>		
Género	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Masculino • Femenino
Edad	Numérica Discreta	Edad en años
Tiempo de evolución de la sintomatología	Numérica Discreta	Tiempo en meses
Déficit Campimétrico	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sin déficit 2. Hemianopsia bitemporal 3. Amaurosis
Agudeza visual	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Normal: 20 / 20 – 20 / 60 2. Disminución de la agudeza visual: 20 / 61 – 20 / 400 3. Ceguera clínica: > 20 / 400
<i>Variable histopatológica y de inmunohistoquímica Independientes</i>		
Expresión de Endoplasmina	Ordinal	0: Negativo +: Levemente positivo ++: Positivo +++: Intensamente Positivo
Expresión de Endoplasmina	Numérica Continua	Valor de Densidad óptica Media del Pixelaje de la imagen analizada.
Expresión de Ki-67	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Menor al 3%: ausente

		<ul style="list-style-type: none"> • Mayor al 3%: presente
Expresión intracelular de: <ul style="list-style-type: none"> • ACTH • GH • TSH • LH • FSH 	Hormonal	Nominal
		<ul style="list-style-type: none"> • Positiva • Negativa

<i>Variables Dependientes</i>		
Tipo de Adenoma	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Agresivo: <ul style="list-style-type: none"> ○ Atípico: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Expresión mayor al 3% de Ki-67 ○ Evolución clínica: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Recidiva ▪ Progresión de la enfermedad ▪ No respuesta a terapia coadyuvante • No agresivo: <ul style="list-style-type: none"> ○ Lesión típica que no cumple con criterios de positividad para Ki – 67 ○ Evolución clínica estable posterior al tratamiento, es decir, no recidiva, ni progresión a la enfermedad y con respuesta adecuada a terapia coadyuvante
Diámetros máximos de la lesión	Numérica continua	<ul style="list-style-type: none"> • Diámetro Antero – Posterior (AP) en mm • Diámetro Dorso – Ventral (DV) en mm • Diámetro Latero – Lateral (LL) en mm

Volumetría de la lesión	Numérica continua	mm ³ Fórmula: V= (Diámetros AP x LL x DV) π / 6
Tamaño de la lesión	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> • Microadenoma: <10mm en sus diámetros máximos • Macroadenoma: 10 – 39mm en sus diámetros máximos • Adenoma Gigante: >40mm en sus diámetros máximos
Hardy	Ordinal	<p>A. Lesión llega a la Cisterna supraselar</p> <p>B. Al Receso anterior del III ventrículo</p> <p>C. Piso del III francamente desplazado</p> <p>D. Extensión intradural</p> <p>E. Metástasis</p>
Vezina	Ordinal	<p>I.Silla turca normal</p> <p>II.Silla turca aumentada de tamaño</p> <p>III.Silla turca con perforación localizada</p> <p>IV.Silla Turca con destrucción difusa</p>
Knosp	Ordinal	<p>0. La lesión no llega a la línea intercarotídea medial</p> <p>1. La lesión sobrepasa la línea intercarotídea medial, pero no la línea intercarotídea media</p> <p>2. La lesión sobrepasa la línea intercarotídea media, pero no la línea intercarotídea lateral</p> <p>3. La lesión sobrepasa la línea intercarotídea lateral</p> <p>4. La lesión llega a la pared lateral del seno cavernoso</p>
Invasividad de las lesiones	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Lesiones invasivas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Vezina \geq III ○ Knosp $>$ 2 ○ Adenomas Gigantes (>40mm en sus diámetros sagital, axial o coronal)

		máximos / Volumetría > 10mm ³)
		<ul style="list-style-type: none"> • Lesiones no invasivas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Vezina < III ○ Knosp ≤ 2 ○ Microadenomas / Macroadenomas (lesiones 1 – 39mm)
Reidiva / Progresión	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> • Presente • Ausente
Apoplejía	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • Presente • Ausente

d) Captura de datos por revisión de expedientes

Se llevará a cabo una revisión de los expedientes clínicos de los pacientes cuyas piezas de patología fueron incluidas en la muestra para obtención de datos relevantes al análisis de acuerdo a las variables mencionadas.

e) Procesamiento de las muestras para análisis por inmunohistoquímica

Cada muestra de tejido de adenoma de hipófisis o de hipófisis sana, se sometió al siguiente procedimiento en el servicio de Patología Experimental de esta institución.

El material se procesó para fijación en formalina e inclusión en parafina, para realizar los cortes histológicos necesarios para las técnicas de hematoxilina y eosina, para el diagnóstico histopatológico de rutina, y para la técnica de inmunohistoquímica, aplicando anticuerpos específicos contra las hormonas adenohipofisarios para su clasificación histopatológica de acuerdo a los criterios de la OMS. Se analizará por técnicas de inmunohistoquímica los siguientes anticuerpos:

- anti-ACTH (1:50; Dako, Carpintería California)
- anti-PRL (1:50; Dako, Carpintería California)
- anti-LH (1:50; Dako, Carpintería California)
- anti FSH (1:50; Dako, Carpintería California)
- anti GH (1:50; Dako, Carpintería California)
- anti Ki 67 (1:50; Dako, Carpintería California)

- anti HSP90B1 (1:50; Dako, Carpintería California)

Técnica de inmunohistoquímica

De cada biopsia incluida en parafina, se elaboraron cortes de 4µm de grosor, los cuales se montaron en laminillas con poli-L-lisina. Posteriormente se les desparafinaron en xilol con cambios de 15 minutos, se hidratarán en una serie de soluciones de alcohol de concentraciones graduales descendentes (OH absoluto, 96%, 80% y 70%,) en baños de 3 minutos cada uno, hasta agua destilada. Se realizó recuperación antigénica en una olla de presión por 1 minuto, colocando las laminillas en un baso Copplin de plástico con tapa con la solución recuperadora Diva Decloaker (Biocare Medical, LLC. Concord, CA. USA). Después de que se bajó la presión de la olla, las laminillas se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se bloqueó la peroxidasa endógena con H₂O₂ por 15 minutos (400 µl de H₂O₂ al 30 % en 50 ml de agua destilada) y se lavaron con agua destilada; se enjuagaron en PBS por 3 minutos y se bloquearán los sitios antigénicos inespecíficos con un bloqueador comercial (BioCare Medical). Se realizaron 2 lavados de 3 minutos en PBS-tritón 0.1% (Triton X-100 Sigma Aldrich, St.Louis) y se incubaron con los anticuerpos primarios.

Después de 2 enjuagues con PBS-tritón por 3 minutos se incubaron con el anticuerpo secundario biotinado (4+Biotinylated Universal Goat, Bio Care Medical) por 30 minutos y se lavaron; a continuación se incubó con el marcador de streptavidina (4+ Streptavidin HRP Label, BioCare Medical) por 30 min. Por último se reveló la reacción con el kit de DAB (diaminobencidina, Dako Cytomation; carpintería, California) por 5 minutos y se enjuagaron en agua destilada durante 5 minutos.

Para el contraste se utilizó hematoxilina por 2 minutos, se enjuagó en agua corriente y se viró la tinción en carbonato de litio por 10 segundos, para finalizar se deshidrataron en alcohol al 70%, 80%, 96%, y absoluto (2 tiempos), OH-xilol y xilol, para después montar las laminillas con cubreobjetos con resina (Entellán Electron Microscopy Sciences), para su observación al microscopio de luz (Olympus BH2).

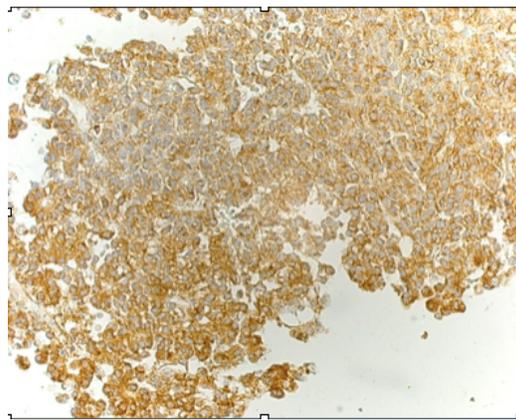
Medición de Marcadores Inmunohistoquímicos

- Marcadores Hormonales: Los marcadores hormonales ACTH, TSH, LH, FSH y GH fueron analizados de forma visual y cualitativa con microscopio a 20x evaluándose 10 campos por cada muestra, obteniéndose un valor positivo o negativo de acuerdo a si se

observaba en la muestra la tinción con el DAB. El control positivo evaluado como parámetro fue glándula hipófisis normal, la cuál expresa de todos los marcadores hormonales.

- Ki – 67: Se analizaron las muestras buscándose tinción nuclear positiva con expresión del DAB. La medición fue cuantitativa evaluada a 40x, con conteo celular visual para medir el índice de expresión de la proteína, es decir, el número de células que expresaron el marcador en su núcleo, por cada 100 células contadas, esto evaluado en 5 campos visuales por muestra; se consideró positiva la medición de un índice de $\geq 3\%$. El control positivo fue una muestra de Cáncer de Mama, en el cuál se ha determinado ya su expresión alta de Ki – 67(13).
- Endoplasmina (HSP90 B1): para la cuantificación en la medición de endoplasmina en las muestras evaluadas, se utilizaron 2 técnicas basadas en al software ImageJ®, el cuál se encuentra para descarga de forma gratuita en la dirección imagej.nih.gov/ij/.
 - Se realiza una medición semi – cuantitativa (con un valor ordinal) y un valor cuantitativo, de acuerdo a la intensidad de expresión de Endoplasmina (HSP90 B1); dichas mediciones las da el programa ImageJ® a través de la aplicación del plugin “DAB deconvolution” (<http://www.mecourse.com/landinig/software/cdeconv/cdeconv.html>), esto con los siguientes pasos:

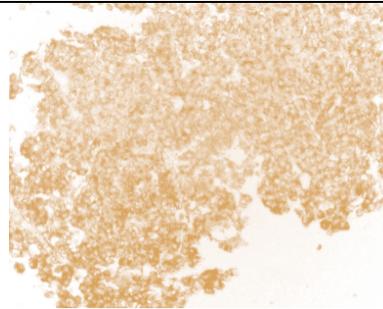
1 Toma de fotos en formato de imagen de las muestras: se utilizó un microscopio (Olympus BH2) para la evaluación de las muestras; posteriormente se realizó la toma de imágenes de 5 campos de la muestra a 20x y 40x; se utilizó una intensidad de luz uniforme para todas las muestras, así como balance de blancos con el fondo de luz sin tejido a valorar



2 Se abre la imagen con el programa ImageJ® y se le aplica el plugin “DAB



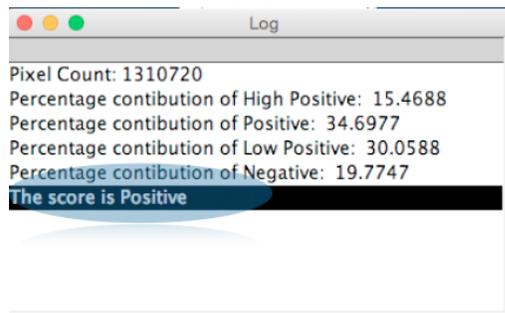
deconvolution”; esta aplicación separa las tinciones de la muestra (en este caso la Hematoxilina del DAB)



- 3 El programa da un valor numérico a cada pixel de la imagen, de acuerdo grado de intensidad de tinción del DAB, valorando su Densidad Óptica (DO), es decir, que tanto deja atravesar la muestra, la luz del microscopio; por lo tanto, a menor valor de DO mayor intensidad de tinción; el grado de intensidad de tinción del DAB se interpreta de la siguiente forma:

- a. Negativo: 171 - 230 DO
- b. Bajamente positivo: 121 – 170 DO
- c. Positivo: 61 – 120 DO
- d. Altamente positivo: 0 – 60 DO

- 4 Se mide el porcentaje de pixeles de la muestra en cada grado de tinción; el programa da el valor ordinal de la intensidad de tinción de acuerdo a la siguiente fórmula:



- 5 También el programa da un valor de la media de DO de los pixeles que componen la imagen, el cuál también fue tomado en cuenta para el análisis.

	Area	Mean	IntDen	RawIntDen
1	722580	88.735	64118081	64118081

El protocolo anterior de medición de intensidad de Endoplasmina, se basó en protocolos similares publicados y validados en la literatura(15-19).

El control positivo utilizado fue tejido nervioso normal, ya que las Neuronas presentan una expresión alta de Endoplasmina de forma constitutiva (20).

f) Análisis estadístico utilizado

1. Análisis bi – variado con Prueba χ^2 de Pearson

<p>Expresión de Endoplasmina</p> <ul style="list-style-type: none"> • 20x • 40x 	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión
<p>Expresión de Ki-67</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Endoplasmina • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión
<p>Expresión Hormonal intracelular</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Endoplasmina • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión
<p>Agresividad</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Endoplasmina • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión
<p>Tamaño de la lesión</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Endoplasmina • Invasividad • Recidiva / Progresión
<p>Invasividad de las lesiones</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Endoplasmina • Recidiva / Progresión
<p>Recidiva / Progresión</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad

	<ul style="list-style-type: none"> • Endoplasmina
<i>Apoplejía</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión

2. Análisis Bi – variado con Prueba de t de Student para muestras independientes

<p><i>Expresión de Endoplasmina</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • 20x • 40x 	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión •
<i>Diámetros máximos de la lesión</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión
<i>Volumetría de la lesión</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ki – 67 • Expresión Hormonal intracelular • Agresividad • Tamaño • Invasividad • Recidiva / Progresión

RESULTADOS

PACIENTES

En el servicio de Neurocirugía del “Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suarez”, se realizaron un total de 116 procedimientos quirúrgicos cuyo diagnóstico histopatológico final fue el de Adenoma Hipofisiario; de los 116 casos, 92 cumplieron con los criterios de inclusión para el presente trabajo, rechazándose 12 casos por cumplir criterios de eliminación, 8 por haber sido tratados previamente en esta institución, y 4 por encontrarse con expedientes incompletos. Se incluyeron por lo tanto en el presente trabajo, un total de 80 casos.

De los 80 pacientes incluidos, 42.5% (34) Hombres, y 57.5% (46) Mujeres. La edad promedio al momento del diagnóstico clínico fue de 46.2 ± 13 años (22 – 74 años). El tiempo de evolución del cuadro clínico asociado a la lesión fue de 22.7 meses; el tiempo de seguimiento post – operatorio dado a los pacientes fue de 46.1 meses (Tabla 1).

Tabla 1. Epidemiología de los pacientes incluidos

n=	80	
Género	Masculino: 42.5% (34)	Femenino: 57.5% (46)
Edad	46.2 ± 13 años (22 – 74)	
Tiempo de evolución	22.7 ± 26.8 meses	
Tiempo de seguimiento	46.1 ± 23.9 meses	

Cuadro clínico

Como ya se mencionó, el tiempo promedio de evolución del cuadro clínico asociado a la lesión hipofisiaria fue de 22.7 meses; el principal síntoma clínico asociado a la lesión fue déficit visual en un 47% de los pacientes, seguido de cefalea en el 34% de los pacientes; este fue el déficit visual percibido por los pacientes al interrogatorio dirigido, ya que, al realizarse un examen oftalmológico completo, 81% de los pacientes tenían ya algún déficit visual al momento del diagnóstico (Tabla 2).

De los 80 pacientes, 81% presentaron algún grado de déficit visual, el cuál se midió en 2 parámetros, 1) La Campimetría Visual; y 2) la agudeza visual. De los pacientes incluidos en el análisis final, solo 71% presentaron algún grado de déficit campimétrico

visual, el cuál se caracterizó por una hemianopsia bitemporal de grado variable; y 10% presentaron amaurosis. Respecto a la Agudeza Visual (AV), esta se midió en cada ojo del paciente, y encontramos que del lado derecho 54% de los pacientes presentaron una AV normal, 15% disminución de la agudeza visual, y 31% Amaurosis; en el ojo izquierdo, 49% presentaron AV normal, 20% disminución de la agudeza visual y 20% amaurosis (Tabla 2).

Como se mencionó en la introducción, los adenomas hipofisarios se clasifican desde el punto de vista bioquímico hormonal, como lesiones funcionantes y no funcionantes. De los pacientes tratados en el 2008 en nuestra institución, 83.75% fueron clasificados como No Funcionales, y 16.25% como funcionales; de los pacientes con lesiones funcionales, 82% cumplieron con criterios bioquímicos y clínicos para diagnóstico de Acromegalia; 10% con diagnóstico de prolactinomas; y 7% con diagnóstico de Enfermedad de Cushing.

Tabla 2. Cuadro clínico asociado

Cuadro clínico	<ul style="list-style-type: none"> • Déficit visual: 47.5% (38) • Cefalea: 33.8% (27) • Hiperfunción Hormonal: 11.3% (9) • Amenorrea: 3.8% (3) • Oftalmoplejia: 2.5% (2) • Hipertensión intracraneal: 1.3% (1)
Déficit visual	<p style="text-align: center;"><i>Déficit campimétrico:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Sin déficit: 18.8% (15) • Hemianopsia bitemporal: 71.3% (57) • Amaurosis: 10% (8)
	<p style="text-align: center;"><i>Agudeza visual ojo derecho</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Normal: 53.8% (43) • Agudeza visual baja: 15% (12) • Amaurosis: 31.3% (25)
	<p style="text-align: center;"><i>Agudeza visual ojo izquierdo</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Normal: 48.8% (39) • Agudeza visual baja: 20% (16)

	<ul style="list-style-type: none"> • Amaurosis: 31.3% (25)
Actividad Bioquímica de la lesión	<ul style="list-style-type: none"> • No funcionante: 82.5% (66) • Funcionante: 16.25% (13)
Síndromes clínicos asociados a lesiones funcionales	<ul style="list-style-type: none"> • Acromegalia: 78.6% (10) • Prolactinomas: 14.3% (2) • Enfermedad de Cushing: 7.1% (1)

Hallazgos por imagen

Se realizó Resonancia Magnética (RM) de 1.5T en secuencias T1 simple y contrastada, T2, Echo gradiente, Difusión y FLAIR a los 80 pacientes incluidos en el presente estudio; así mismo, se realizó Tomografía Axial Computada (TAC) a todos los pacientes incluidos en el trabajo; ambos estudios se realizaron tanto para el diagnóstico y valoración preoperatoria, como para el seguimiento de los pacientes. Para la valoración de las lesiones, de acuerdo a parámetros de imagen, se tomaron en cuenta, las máximas dimensiones de las lesiones en los diámetros Antero – posterior, Latero – Lateral y Dorso – Ventral; la volumetría de las lesiones; y las clasificaciones de Hardy – Vezina y la de Knosp. En la tabla 3 se muestran los hallazgos en relación a los parámetros antes mencionados.

Tabla 3. Hallazgos de imagen

Vezina	<ul style="list-style-type: none"> • A: 5% (4) • B: 26.3% (21) • C: 36.3% (29) • D: 31.3% (25) • E: 1.3% (1)
Hardy	<ul style="list-style-type: none"> • I: 1.3% (1) • II: 46.3% (37) • III: 27.5% (22) • IV: 25% (20)
Knosp	<ul style="list-style-type: none"> • 0: 17.5% (14) • 1: 16.3% (13)

	<ul style="list-style-type: none"> • 2: 15% (12) • 3: 31.3% (25) • 4: 20% (16)
Diámetros	<ul style="list-style-type: none"> • AP: 25.6 ± 10.3mm • DV: 32.1 ± 11.4mm • LL: 27.3 ± 9.7mm
Volumetría	16.5 ± 19.4cm ³
Datos de Apoplejía	15% (12)
Lesiones invasivas	67.5% (54)

Encontramos que los diámetros de las lesiones son similares en los 3 ejes de la lesión, con un mayor diámetro en el eje Dorso – Ventral, en donde encontramos que el diámetro promedio fue de 32.1mm; la volumetría promedio de las lesiones fue de 16.5mm³, y variaron desde 0.06 hasta 91.8cm³. Respecto a las clasificaciones de imagen utilizadas para evaluar las lesiones, encontramos en la clasificación de Hardy – Vezina que el 68.9% de las lesiones, es decir, 55 pacientes, tuvieron lesiones de tamaño ≥ IIIC, es decir, lesiones que estaban por arriba de la cisterna supraselar, y tenían ya afección del piso selar. Con la clasificación de Knosp, 51.4% de las lesiones, 42 pacientes, tuvieron lesiones con un grado > a Knosp 2, es decir, lesiones que comprometían el seno cavernoso lateral a la línea intercarotídea medial.

De acuerdo a los parámetros definidos en la metodología, es decir, lesiones Vezina Grado ≥ III, Knosp > 2, Volumetría > 10mm³, o diámetros máximos ≥ 40mm, se encontró que el 67.5% de las lesiones cumplieron parámetros de invasividad, esto es, 54 pacientes en total.

Manejo Terapéutico

El manejo de elección inicial en todos los pacientes fue el manejo quirúrgico (Figura 1). El procedimiento quirúrgico de elección durante el 2008 fue el abordaje trans – septo esfenoideal con técnica microquirúrgica en el 86.3% de los pacientes (69 pacientes); las otras técnicas quirúrgicas utilizadas fueron la vía trans – nasal endoscópica en 2 pacientes, y la vía trans – craneal dorsolateral microquirúrgica en 8 pacientes.

En cuanto a los resultados quirúrgicos, se logró una exéresis total en el 31.3% de los pacientes (25), mientras que solo se logró una exéresis parcial en el 23.8% (19). El 23.8% de los pacientes presentaron Diabetes Insípida en el periodo post – operatorio, y de estos, en 54.5% esta fue permanente. Se presentaron complicaciones post – operatorias en el 17.5% de los pacientes, siendo la complicación más frecuente la hemorragia del lecho quirúrgico en el 11.3% de los casos (9). El índice de mortalidad fue del 3.8%, con 3 pacientes que fallecieron por complicaciones asociadas a la cirugía.

Tabla 4. Resultados Quirúrgicos

Grado de Exéresis	<ul style="list-style-type: none"> • Parcial: 23.8% (19) • Subtotal: 30% (24) • Casi total: 15% (12) • Total: 31.3% (25) 	
Complicaciones post - operatorias	17.5% (14)	
Tipo de complicaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Fístula LCR: 5% (4) • Hemorragia: 11.3% (9) • Evento Vascular Cerebral: 2.5% (2) 	
Mortalidad quirúrgica	3.8% (3)	
Diabetes Insípida post – operatoria	Presente en el 23.8% (22)	<ul style="list-style-type: none"> • Permanente: 54.5% (12) • Transitoria: 45.5% (10)
Mejoría visual	42.5%	
Curación bioquímica en pacientes con lesiones funcionantes	76.9%	<ul style="list-style-type: none"> • Acromegalia: 80% • Enfermedad de Cushing: 100% • Prolactinomas: 50%
Re – intervención	18.8% (15)	
Síntomas por la lesión al final del seguimiento	21.3% (17)	
Grado de lesión al final del seguimiento	<ul style="list-style-type: none"> • Sin lesión: 38.8% (31) 	

	<ul style="list-style-type: none"> • Lesión residual del 10 – 50%: 35% (28) • Lesión residual > 50%: 22.5% (18)
--	--

En el seguimiento post – operatorio 42.5% de los pacientes presentaron mejoría visual posterior al procedimiento quirúrgico, y 21.3% continuaron con sintomatología asociada a lesión residual, sin contar secuelas visuales posterior al manejo quirúrgico. Al final del seguimiento 38.8% de los pacientes no tuvieron lesión residual en los estudios de imagen de seguimiento, 35% con lesión residual del 10 – 50% y 22.5% con lesión residual > 50%.

En pacientes con lesiones funcionales se curaron, de acuerdo a parámetros bioquímicos, en el 76.9% de los casos. Los pacientes con acromegalia, se curaron en un 80% de los casos; los pacientes con Prolactinomas en un 50% de los casos; y el único paciente con diagnóstico de enfermedad de Cushing se curó con el manejo quirúrgico inicial.

Se requirió de re – intervención quirúrgica en el 18.8% de los pacientes por progresión de la enfermedad o recidiva en el caso de pacientes curados.

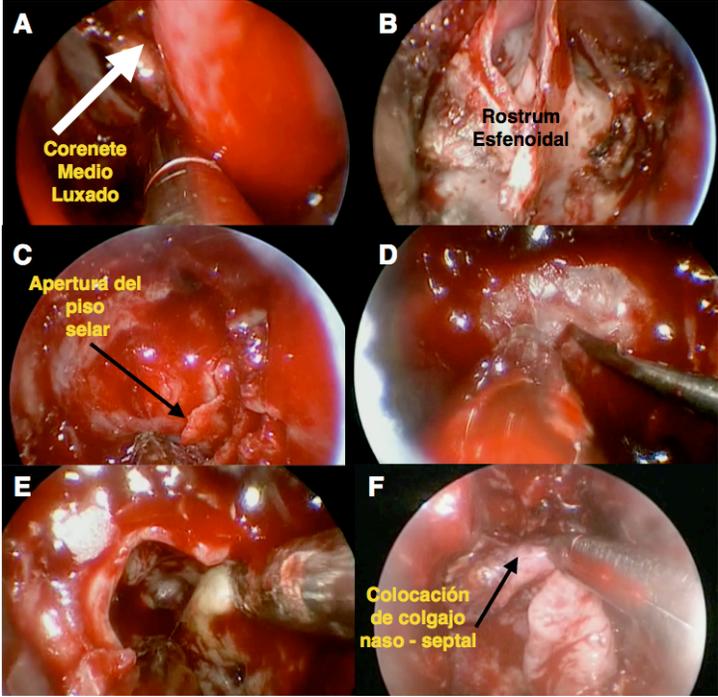


Figura 1. Técnica quirúrgica del abordaje Trans – selar lateral al seno cavernoso. A) Durante el abordaje se realiza luxación o retiro del cornete nasal medio, generalmente, esto se realiza en la cavidad nasal derecha. B) Se comunican las dos cavidades nasales a

través de una septostomía posterior, maniobra que deja expuesto el rostrum esfenoidal, el cuál se retira para apertura del seno esfenoidal. C) Una vez fresado el componente óseo del seno esfenoidal, se deja expuesto el piso de la silla turca, el cuál se retira teniendo como límites laterales las Arterias Carótidas Internas para – selares, caudal el dorso selar, y rostral el tubérculo selar. D) Una vez expuesta la duramadre del piso selar se realiza su apertura en X o en +. E) Se realiza una devastación central de la lesión para el posterior abordaje trans – selar lateral. F) Una vez terminado el procedimiento se realiza la reconstrucción del mismo teniendo como base la colocación de un colgajo naso – septal.

Radiocirugía

Se dio Radioterapia al 35% de los pacientes en el seguimiento post – operatorio. De estos 28 pacientes manejados con Radioterapia, 7 (25%) fueron sometidos a la modalidad de Radiocirugía, y 21 (75%) fueron sometidos a Radioterapia Esterotóxica Fraccionada.

Las dosis utilizadas fueron de 16.5Gy a 70Gy, con una media de 48.7Gy, aplicadas en 1 sesión en el caso de Radiocirugía, y un promedio de 26 sesiones.

Adenomas invasivos

Se consideraron adenomas invasivos aquellos que presentaron un Knosp >2, Hardy \geq III, volumetría > 10cm³ o un diámetro mayor \geq 40mm (adenomas gigantes).

Tabla 5. Relación de la Invasividad de las lesiones con otros parámetros clínicos

	Criterio clínico	p=
Invasividad	<i>Sexo</i>	0.646*
	<i>Recidiva / progresión</i>	0.003*
	<i>Apoplejía</i>	0.947*
	<i>Funcionalidad</i>	0.251*

* χ^2 Pearson

Se encontró una relación estadísticamente significativa entre la invasividad de la lesión y la posibilidad de recidiva / progresión de la enfermedad, que llevó a estos pacientes a requerir más de una intervención quirúrgica para su manejo (Tabla 5).

La invasión al seno cavernoso fue evaluada de forma independiente, y reportamos en el presente trabajo una tasa de invasión al seno cavernoso (es decir lesiones Knos > 3)

del 51.3% (41). De estos casos encontramos una relación estadísticamente significativa de la invasión al seno cavernoso y el tamaño del tumor (tabla 5), siendo más invasivos al seno cavernoso, los adenomas gigantes, respecto a los macroadenomas y microadenomas.

Tabla 6. Relación de la Invasividad de las lesiones con otros parámetros clínicos

Invasividad	Criterio clínico	p=
	<i>Actividad bioquímica de la lesión</i>	0.313*
	<i>Tamaño de la lesión</i>	0.0001*
	<i>Agresividad</i>	0.201*
	<i>Reintervención</i>	0.016*
	<i>Ki - 67</i>	0.471*
	<i>Apoplejía</i>	0.594*
	<i>TSH</i>	0.026*
	<i>FSH</i>	0.035*
	<i>GH</i>	0.009*
	<i>Volumetría</i>	0.0001**

* χ^2 Pearson

**t student

Encontramos también que las lesiones negativas a TSH y FSH fueron más invasivas al seno cavernoso; así como las positivas a GH, también mostraron un comportamiento más invasivo paraselar; los adenomas hipofisarios con invasión al seno cavernoso tuvieron una mayor tasa de reintervención y manejo con radiocirugía, por recidiva o progresión de la lesión. Al comparar la volumetría de las lesiones con invasión al seno cavernoso, respecto a las que no tienen invasión, encontramos que la media del valor de volumetría en lesiones con invasión al seno cavernoso fue de 24cm³, respecto a 8.6cm³ de las lesiones sin invasión al seno cavernoso, esto con una diferencia estadísticamente significativa.

Adenomas Agresivos

Las lesiones agresivas las definimos como aquellas que presentaron elevación del índice de proliferación ($Ki - 67 > 3\%$), recidiva, progresión de la enfermedad o falta de respuesta al tratamiento coadyuvante.

Tabla 7. Relación de la Agresividad de las lesiones con otros parámetros clínicos

	Criterio clínico	p=
Agresividad	<i>Sexo</i>	0.346*
	<i>Invasividad</i>	0.079*
	<i>Apoplejía</i>	0.947*
	<i>Funcionalidad</i>	0.884*
	<i>Tamaño de la lesión</i>	0.359*
	<i>Volumetría de la lesión</i>	0.723**

* χ^2 Pearson

**t student

No encontramos una relación estadísticamente significativa entre lesiones clasificadas como agresivas y no agresivas, al contrastar las variables clínicas analizadas en el presente estudio (Tabla 7).

Lesiones Funcionantes

Trece pacientes en total mostraron lesiones funcionantes, siendo 10 con Acromegalia, 2 con Prolactinomas y 1 con Enfermedad de Cushing. El 61.5% de los pacientes fueron del sexo femenino, con una edad media de 37 años, un tiempo de evolución promedio de 43.8 meses, y un tiempo de seguimiento promedio de 45.6 meses.

Tabla 8. Lesiones Funcionantes

Hardy	<ul style="list-style-type: none">• A: 23.1% (3)• B: 46.2% (6)• C: 23.1% (3)• D: 7.7% (1)• E: 0%
--------------	--

Vezina	<ul style="list-style-type: none"> • I: 7.7% (1) • II: 69.2% (9) • III: 23.3% (3) • IV: 0%
Knosp	<ul style="list-style-type: none"> • 0: 38.5% (5) • 1: 7.7% (1) • 2: 15.4% (2) • 3: 23.1% (3) • 4: 15.4% (2)
Tamaño de la lesión	Microadenomas: 7.7% (1)
	Macroadenomas: 76.9% (10)
	Adenomas Gigantes: 15.4% (2)
Diámetros	<ul style="list-style-type: none"> • AP: 17.9 ± 8.7mm • DV: 23.8 ± 11.4mm • LL: 20.8 ± 11.2mm
Volumetría	7.7 ± 11.4 cm ³
Datos de Apoplejía	15.4% (2)
Lesiones invasivas	53.8% (7)
Lesiones Agresivas	30.8% (4)

En la tabla 8 podemos observar que las lesiones con actividad bioquímica funcional, fueron lesiones de menor tamaño y con menos tendencia a la invasión de estructuras infra y para selares; reportamos una tasa de curación bioquímica del 76.9%, es decir, 10 de los 13 pacientes con lesiones funcionantes se curaron, con el manejo quirúrgico. Cuando se realiza en análisis estadístico de los factores pronósticos involucrados en la curación de los pacientes con lesiones funcionantes, observamos que los datos de agresividad son los que se relacionaron directamente con la posibilidad de curación bioquímica.

Lesiones No Funcionantes

El resto de los pacientes presentaron lesiones no funcionantes (67 pacientes), es decir, no presentaron un síndrome clínico asociado a hiperfunción hormonal. El 56.7% de los pacientes fueron del sexo femenino, con una edad media de 47.9 años de edad, un tiempo de evolución promedio de 18.6 meses, y un tiempo de seguimiento promedio de 46.2 meses.

Tabla 9. Lesiones No Funcionantes

Hardy	<ul style="list-style-type: none"> • A: 1.5% (1) • B: 22.4% (15) • C: 38.8% (26) • D: 35.8% (24) • E: 1.5% (1)
Vezina	<ul style="list-style-type: none"> • I: 0% • II: 41.8% (28) • III: 28.4% (19) • IV: 29.9% (20)
Knosp	<ul style="list-style-type: none"> • 0: 13.4% (9) • 1: 17.9% (12) • 2: 14.9% (10) • 3: 32.8% (22) • 4: 20.9% (14)
Tamaño de la lesión	Microadenomas: 0%
	Macroadenomas: 64.2% (43)
	Adenomas Gigantes: 35.8% (24)
Diámetros	<ul style="list-style-type: none"> • AP: 27.1 ± 10mm • DV: 33.7 ± 10.8mm • LL: 28.6 ± 8.9mm
Volumetría	18.2 ± 20.2cm ³
Datos de Apoplejía	14.9% (10)

Lesiones invasivas	70.1% (47)
Lesiones Agresivas	32.8% (22)

Las lesiones no funcionantes presentaron un mayor tamaño respecto a las lesiones no funcionantes. Encontramos una relación estadísticamente significativa en los siguientes parámetros clínicos:

Tabla 10. Lesiones No Funcionantes

Parámetro	Criterio clínico	p=
Agresividad	Recidiva / progresión	0.0001
	Apoplejía	0.007
Invasividad	Recidiva / progresión	0.0001
	Ki – 67	0.447
	Apoplejía	0.447
	Volumetría	0.0001
Invasión al seno cavernoso	Recidiva / progresión	0.008
	Ki – 67	0.345
	Apoplejía	0.666
	Tamaño de la lesión	0.0001
	Volumetría	0.0001
Ki - 67	Tamaño de la lesión	0.258
	Recidiva / progresión	0.346
	Apoplejía	0.636
	Volumetría	0.793

* χ^2 Pearson

**t student

En las lesiones no funcionantes observamos una relación entre varios parámetros, como se observa en la tabla 10; observamos relación entre la agresividad y la invasividad de la lesión, y la posibilidad de recidiva y progresión de la enfermedad y la volumetría de la lesión.

Inmunohistoquímica Hormonal

A continuación se muestran los resultados obtenidos al aplicar técnicas de inmunohistoquímica a las muestras de ADH obtenidas de los pacientes incluidas en el presente estudio (Tabla 11):

Tabla 11. Marcadores Hormonales

Null	11.2% (9)
Prolactina	20% (16)
ACTH	27.5% (22)
TSH	41.3% (33)
LH	43.8% (35)
FSH	61.3% (49)
GH	22.5% (18)

Podemos observar que el 11.2% de las muestras fueron negativas para todos los marcadores hormonales; se registró así mismo un porcentaje importante de lesiones que expresan FSH, LH y TSH, sin condicionar síndromes hormonales. Otro hallazgo importante es el porcentaje importante de lesiones silentes a ACTH; en total se registraron 22 lesiones que expresaron ACTH, sin embargo solo 1 de estas condicionaron un síndrome clínico de Enfermedad de Cushing, por lo que el resto se consideran lesiones silentes a ACTH, que se han reportado, como lesiones de comportamiento clínico mas agresivo respecto a lesiones con otro patrón inmunohistoquímico hormonal.

Tabla 12. Relación de la expresión hormonal inmunohistoquímica y el comportamiento clínico y por imagen de las lesiones

	Tamaño de la lesión*	Invasividad*	Datos de Apoplejía*	Recidiva / progresión de la enfermedad*	Ki – 67*	Agresividad*
PL	<i>p=0.661</i>	<i>p=0.283</i>	<i>p=0.210</i>	<i>p=0.459</i>	<i>p=0.754</i>	<i>p=0.9</i>
ACTH	<i>p=0.056</i>	<i>p=0.011</i>	<i>p=0.63</i>	<i>p=0.154</i>	<i>p=0.063</i>	<i>p=0.685</i>
TSH	<i>p=0.120</i>	<i>p=0.112</i>	<i>p=0.215</i>	<i>p=0.530</i>	<i>p=0.975</i>	<i>p=0.725</i>

GH	$p=0.464$	$p=0.005$	$p=0.885$	$p=0.762$	$p=0.550$	$p=0.539$
LH	$p=0.654$	$p=0.508$	$p=0.156$	$p=0.342$	$p=0.636$	$p=0.857$
FSH	$p=0.061$	$p=0.407$	$p=0.0001$	$p=0.116$	$p=0.727$	$p=0.407$
NULL	$p=0.004$	$p=0.485$	$p=0.520$	$p=0.793$	$p=0.520$	$p=0.955$

* χ^2 Pearson

Al realizar el análisis estadístico para correlacionar la actividad hormonal con el comportamiento clínico de las lesiones (Tabla 12), encontramos que hay un valor estadísticamente significativo para GH vs. invasividad de la lesión, siendo las lesiones negativas a GH más invasivas desde el punto de vista imagenológico; así mismo encontramos una tendencia de las lesiones positivas a ACTH a ser lesiones de mayor tamaño desde el punto de vista volumétrico, más invasivas, y a tener un mayor índice de agresividad positivo (Ki – 67), aunque este último punto, no alcanzó una significancia estadísticamente significativa. Las lesiones negativas a FSH tuvieron mayor incidencia de apoplejía respecto a las positivas. Las lesiones sin expresión de marcadores hormonales (Null), fueron con mayor frecuencia Adenomas Gigantes, de forma estadísticamente significativa. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en el resto de los parámetros evaluados.

Ki – 67

Como se mencionó en la introducción, el Ki – 67 es un marcador de atipia para adenomas hipofisarios, y se relaciona a un comportamiento agresivo desde el punto de vista biológico y clínico de la lesión. En el presente trabajo, encontramos que el 15% de las lesiones (12 casos) presentaron un índice de Ki – 67 > a 3%, el cuál es el parámetro para considerarlas positivas a este marcador de mitosis celular, y por lo tanto, de un comportamiento biológico más agresivo (Figura 2).

Tabla 13. Relación del Ki – 67 y el comportamiento clínico y por imagen de las lesiones

	Variable clínica	p=
	<i>Tamaño de la lesión</i>	0.031
	<i>Invasividad</i>	0.462

Ki - 67	<i>Datos de apoplejía</i>	0.483
	<i>Recidiva / Progresión del tumor</i>	0.307
	<i>Funcionante / no Funcionante</i>	0.934

En la tabla 13 encontramos que la expresión de Ki – 67 se relaciona de forma estadísticamente significativa con el tamaño de la lesión, siendo su expresión mayor en lesiones >40mm en su diámetro máximo y en lesiones >10cm³ de volumetría. Como ya se mencionó en la tabla 6 que la expresión de Ki – 67 tampoco tuvo relación con la expresión de los factores hormonales por inmunohistoquímica en las muestras evaluadas.

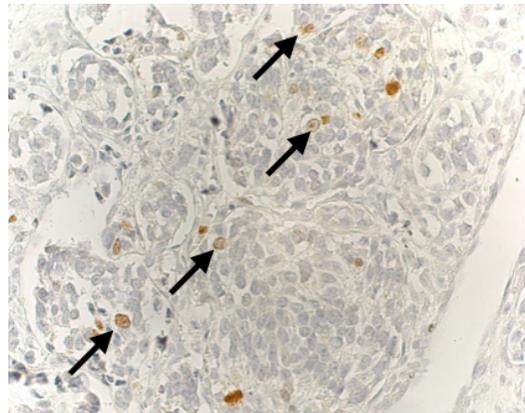


Figura 2. Expresión Nuclear de Ki – 6 en control positivo de Cáncer de Mama Metastásico (Flechas Negras)

Sumando este parámetro, y el comportamiento clínico de la lesión, en relación a pacientes con recidiva o progresión de la enfermedad, encontramos que un total de 32.5% cumplieron con parámetros de agresividad, es decir, 26 casos.

Endoplasmina (HSP90 B1)

El análisis de la expresión de Endoplasmina se realizó valorando dos parámetros, como ya se mencionó en la metodología. En primer lugar el grado de expresión dando un valor ordinal, el cual lo da automáticamente el programa ImageJ a través de su aplicación DAB Deconvolution; y un segundo valor Numérico Continuo, llamado Densidad óptica de la muestra, de acuerdo al promedio del grado de intensidad de expresión del DAB en los pixeles de la imagen. Ambos valores fueron analizados para el presente trabajo. Cabe la

pena mencionar de nuevo, que se realizó la medición tanto en fotografías tomadas de las muestras a 20x y a 40x (Figura 3).

Tabla 14. Valores de Endoplasmina (HSP90 B1)

Grado de Expresión a 20x	• <i>Negativa: 15% (12)</i>
	• <i>Levemente positivo: 52.5% (42)</i>
	• <i>Positivo: 32.5% (26)</i>
	• <i>Altamente positivo: 0%</i>
Densidad óptica a 20x	$129.7 \pm 29.2 (67.4 - 187.6)$
Grado de Expresión a 40x	• <i>Negativa: 10% (8)</i>
	• <i>Levemente positivo: 40% (32)</i>
	• <i>Positivo: 50% (40)</i>
	• <i>Altamente positivo: 0%</i>
Densidad óptica a 40x	$116.7 \pm 29.4 (53.8 - 180.4)$

Al realizarse el análisis estadístico con una prueba de t de student para muestras dependientes de la diferencia entre la medición en la expresión de Endoplasmina a 20x y 40x, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de expresión en ambos campos de visión al microscopio ($p= 0.0001$).



Figura 3. Imágenes de los diferentes grados de expresión de Endoplasmina en Adenomas Hipofisarios.

En relación a los parámetros clínicos, por imagen e inmunohistoquímicos, los resultados se muestran en las tablas 15 - 18.

Tabla 15. Relación del grado de expresión de endoplasmina con parámetros clínicos y por imagen

	Endoplasmina 20x*	Endoplasmina 40x*
Lesión Funcionante vs. No Funcionante	<i>p= 0.199</i>	<i>p=0.310</i>
Tamaño de la lesión	<i>p= 0.399</i>	<i>p=0.698</i>
Agresividad	<i>p= 0.829</i>	<i>p=0.945</i>
Invasividad	<i>p= 0.418</i>	<i>p=0.710</i>
Recidiva / progresión de la enfermedad	<i>p= 0.781</i>	<i>p=0.897</i>
Apoplejía	<i>p= 0.670</i>	<i>p=0.414</i>

* χ^2 Pearson

No encontramos diferencia estadísticamente significativa al analizar la relación entre la expresión de Endoplasmina y los marcadores clínicos ni radiológicos de agresividad o invasividad; así mismo no encontramos diferencia con otros parámetros, como la actividad bioquímica de la lesión (Tabla 15).

Al hacer el análisis de la relación entre la expresión de Endoplasmina y otros marcadores hormonales por inmunohistoquímica, no encontramos diferencia estadísticamente significativa (Tabla 16).

Tabla 16. Relación del grado de expresión de endoplasmina con parámetros de inmunohistoquímica

	Endoplasmina 20x*	Endoplasmina 40x*
Ki - 67	<i>p= 0.116</i>	<i>p= 0.071</i>
Prolactina	<i>p= 0.929</i>	<i>p= 0.328</i>
ACTH	<i>p= 0.766</i>	<i>p= 0.972</i>
TSH	<i>p= 0.431</i>	<i>p= 0.518</i>
LH	<i>p= 0.668</i>	<i>p= 0.870</i>
FSH	<i>p= 0.681</i>	<i>p= 0.882</i>
GH	<i>p= 0.871</i>	<i>p= 0.072</i>
Null	<i>p= 0.705</i>	<i>p= 0.939</i>

* χ^2 Pearson

Al hacer el análisis de la Densidad óptica obtenida de las muestras procesadas para endoplasmina, se corroboran los resultados obtenidos en el análisis anterior, ya que no se encontró diferencia estadísticamente significativo con los parámetros clínicos, por imagen e inmunohistoquímicos hormonales y de Ki – 67.

Tabla 17. Relación de la Densidad óptica en muestras procesadas para Endoplasmina con parámetros clínicos y por imagen

	Endoplasmina 20x*	Endoplasmina 40x*
Lesión Funcionante vs. No Funcionante	$p= 0.652$	$p=0.523$
Tamaño de la lesión	$p= 0.454$	$p=0.785$
Agresividad	$p= 0.442$	$p=0.595$
Invasividad	$p= 0.715$	$p=0.982$
Recidiva / Progresión de la enfermedad	$p= 0.902$	$p=0.763$
Apoplejía	$p= 0.267$	$p=0.430$

* χ^2 Pearson

Tabla 18. Relación de la Densidad óptica en muestras procesadas para Endoplasmina con parámetros de inmunohistoquímica

	Endoplasmina 20x*	Endoplasmina 40x*
Ki - 67	$p= 0.321$	$p= 0.871$
Prolactina	$p= 0.730$	$p= 0.316$
ACTH	$p= 0.501$	$p= 0.651$
TSH	$p= 0.445$	$p= 0.340$
LH	$p= 0.831$	$p= 0.479$
FSH	$p= 0.627$	$p= 0.686$
GH	$p= 0.108$	$p= 0.070$
Null	$p= 0.719$	$p= 0.863$

* χ^2 Pearson

La expresión de Endoplasmina no se relacionó a los parámetros de Agresividad, ni Invasividad de las lesiones, así como tampoco se relacionó a otros parámetros clínicos u hormonales evaluados en este trabajo.

DISCUSIÓN

Son varios los parámetros tomados en cuenta para definir cuales adenomas hipofisarios son invasivos, y cuales exhiben un curso clínico agresivo(21); de acuerdo a los parámetros utilizados se encuentra que del 25 – 55% de los adenomas hipofisarios son agresivos desde el punto de vista de la evolución clínica(22). No existe una definición clara de que se considera adenoma agresivo, pero generalmente estos tumores se consideran aquellos que tienen una invasión masiva a las estructuras adyacentes, crecimiento rápido, gran tamaño, tendencia a recurrir rápidamente, resistencia a los tratamientos convencionales (incluyendo radioterapia), y, en algunos pacientes, un desenlace clínico fatal(23). De acuerdo a la clasificación de la OMS para los tumores endócrinos, los adenomas atípicos se consideran aquellos que tienen características morfológicas de atipia, como un crecimiento invasivo, un índice mitótico elevado, un índice de proliferación elevado ($Ki - 67 \geq 3\%$) y tinción nuclear para p53(23). La frecuencia de adenomas pituitarios atípicos se reporta del 2.7 – 15%(3); sin embargo esta clasificación de la OMS no correlaciona en todos los estudios con el curso clínico de los pacientes, ya que algunos adenomas típicos desde el punto de vista de estos parámetros, tienen un fenotipo agresivo; y muchos adenomas atípicos, carecen de recurrencia o un curso clínico agresivo. A pesar de la importancia de identificar criterios específicos de agresividad tumoral, no se han estandarizado hasta la fecha marcadores clínicos, histológicos o radiológicos de agresividad tumoral(23). Esta ausencia de correlación entre los marcadores bioquímicos, y el comportamiento clínico de la lesión, se agudiza al no haber una estandarización en la terminología, a que en la literatura, el término de agresividad, es usualmente utilizado como sinónimo de invasividad, y no necesariamente es así. Los adenomas hipofisarios agresivos parecen representar una entidad distinta, y, por consecuencia deben definirse criterios diagnósticos específicos. Los estudios de investigación deben enfocarse en definir los términos de agresividad, no solo desde el punto de vista clínico, si no en términos de marcadores moleculares y radiológicos, además de los criterios histopatológicos.

Así, los adenomas hipofisarios pueden ser clasificados desde dos puntos de vista, uno es, la agresividad de la lesión, y otro, la invasividad de la lesión; ambos términos adquieren importancia en estos tumores, ya que determinan la posibilidad de éxito

quirúrgico y de morbilidad con el procedimiento; y establecen un pronóstico temprano respecto a la posibilidad de curación o recidiva en estos pacientes. La complejidad del problema no acaba aquí, ya que además, estos dos términos deben de ser correlacionados con las características de la lesión, desde el punto de vista de la actividad bioquímica de la misma, ya que el plan terapéutico, e incluso, las indicaciones del manejo cambian de acuerdo a si la lesión condiciona sintomatología solo asociado a su efecto de masa tumoral, en el caso de las lesiones no funcionantes; o condicionan también un síndrome clínico asociado a la actividad bioquímica de la lesión.

Adenomas invasivos

Tanto los adenomas típicos como los atípicos pueden tener un patrón de invasividad y / o tener una evolución clínica agresiva, y ambos términos no deben ser usados de forma intercambiable. Actualmente, agresividad se define por el patrón de comportamiento clínico, e invasividad, de acuerdo a los hallazgos radiológicos, quirúrgicos e histopatológicos(23).

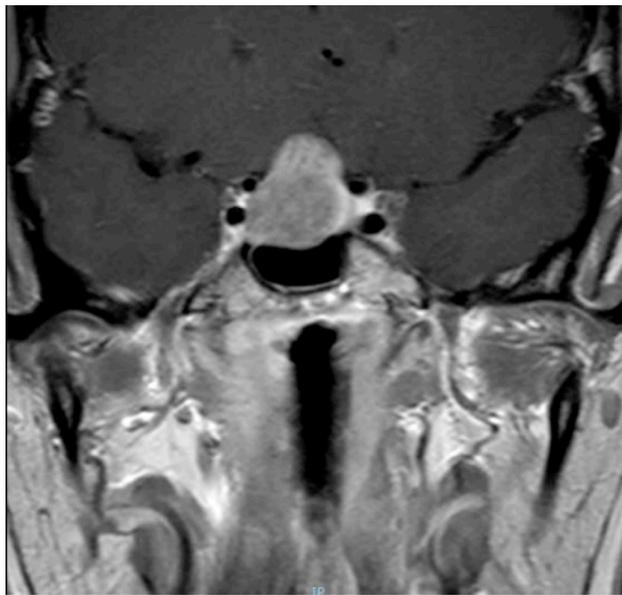


Figura 4. Ejemplo de una lesión no invasiva, con una volumetría $< 10\text{cm}^3$, diámetros mayores $< 20\text{mm}$, sin invasión al seno esfenoidal ni senos cavernosos.

Ya se mencionó que los adenoma hipofisarios son invasivos en un 25 – 55% de los casos, de acuerdo a la serie revisada; las estructuras que pueden verse involucradas en

invasión de un tumor hipofisiario son el seno esfenoidal y el seno cavernoso. El grado de invasión de un tumor hipofisiario puede valorarse en estudios de TAC y Resonancia Magnética, o histológicamente, valorando el grado de invasión de la lesión a la mucosa esfenoidal. Son varias las clasificaciones por imagen que se han utilizado para valorar el grado de invasión de los tumores hipofisiarios. Las más utilizadas y validadas son la clasificación de Hardy – Vezina, que valora la invasión al seno esfenoidal y compartimientos supra – selares; y la clasificación de Knosp, que valora el grado de invasión al seno cavernoso. Se ha determinado en estudios previos que el grado de invasión al seno esfenoidal y al seno cavernoso correlacionan con el grado de invasividad de las lesiones de acuerdo a hallazgos quirúrgicos; sin embargo, esto no correlaciona con el grado de extensión supra – selar de las lesiones. De igual forma, se a observado que la mayoría de las lesiones invasivas son macroadenomas o adenomas gigantes, y que una volumetría de la lesión $> 10\text{cm}^3$ correlaciona también con lesiones de comportamiento invasivo(23). Por lo tanto, los criterios mas fidedignos de invasividad, que fueron los utilizados en el presente estudio, son los siguientes:

- Adenomas con invasión al seno esfenoidal grado de Hardy III y IV.
- Adenomas con invasión al seno cavernoso grado 3 – 4 de Knosp.
- Adenomas con volumetría $> 10\text{cm}^3$ (Figura 6).

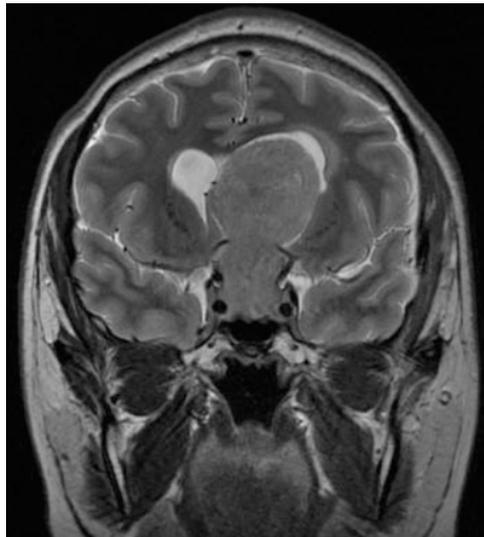


Figura 5. Ejemplo de una lesión invasiva por volumen; la lesión no presenta invasión a senos cavernosos, ni al seno esfenoidal, sin embargo, la volumetría de la lesión es $> 10\text{cm}^3$ y sus diámetros máximos son $> 40\text{mm}$.

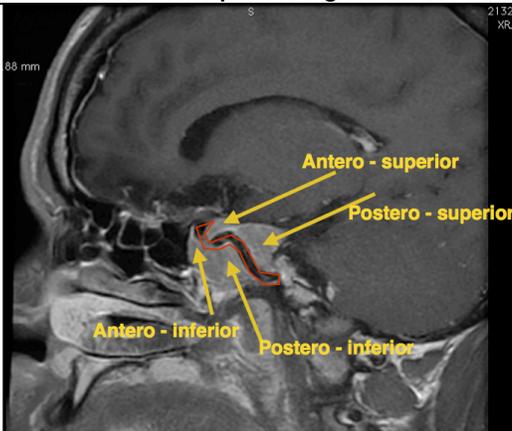
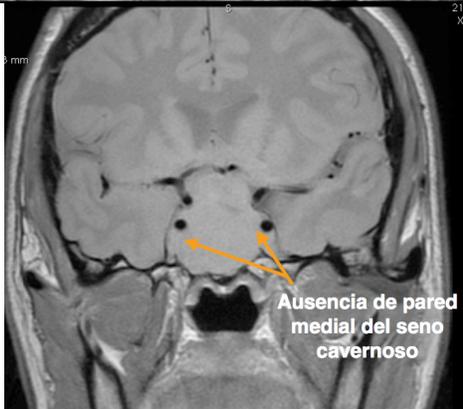
En el presente estudio encontramos que 42 pacientes, es decir el 52.5%, mostraron invasión al seno esfenoidal; 51.2% (41 pacientes) presentaron invasión al seno cavernoso, y 48.7% (39 pacientes) presentaron lesiones con una volumetría $> 10\text{cm}^3$. De esta forma, y de acuerdo a estos parámetros, 67.5% de las lesiones fueron invasivas. Este porcentaje es mayor al reportado en otras series, como fue antes mencionado, y atribuimos este efecto al hecho de que nuestra institución es un centro de referencia de tercer nivel, y por lo tanto, hay un sesgo importante en cuanto a la casuística de los pacientes atendidos.

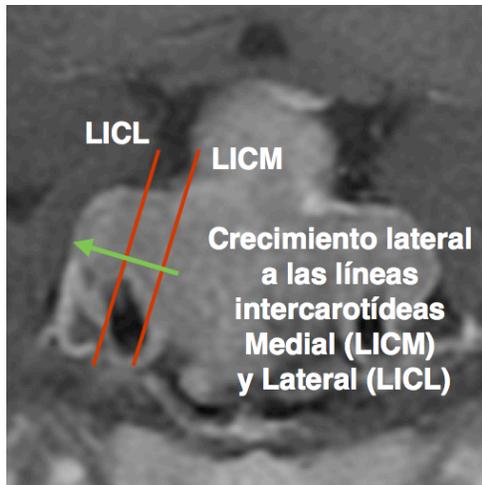


Figura 6. Ejemplo de un Adenoma de hipófisis altamente invasivo; la lesión presenta una volumetría $> 10\text{mm}^3$, invasión a ambos senos cavernosos (círculos amarillos) e invasión al seno esfenoidal (flecha amarilla).

Invasividad de los Adenomas Hipofisarios al Seno Cavernoso y parámetros por imagen de invasión

Se reporta invasión del seno cavernoso en el 15 – 20% de estas lesiones Figura (24, 25). En el presente trabajo encontramos una tasa de invasión al seno cavernoso $> 50\%$, lo cual probablemente aya en relación al tipo de pacientes que se atienden en nuestra institución, que no es un centro a población abierta, sino un centro de referencia.

Dato por imagen	Descripción
	<p>La lesión envolvía los compartimientos Superiores e Inferiores de la Arteria Carótida Interna en la imagen sagital</p>
	<p>Ausencia de la pared medial del seno cavernoso, mejor evaluado en las secuencias Echo gradiente y T2 de la Resonancia Magnética</p>
	<p>El involucrimiento de < del 67% de la circunferencia de la ACI tiene un valor predictivo positivo del 95% de encontrar invasión al seno cavernoso en el trans - operatorio</p>



Siguiendo la clasificación de Knosp se define como invasión al seno cavernoso cuando la lesión sobrepasa las líneas inter – carotídeas Medial y Lateral en la imagen Coronal de la Resonancia Magnética

Figura 7. Los datos por imagen que encontramos como signos de invasión al seno cavernoso.

El grosor de la pared medial del seno cavernoso es de aproximadamente 200 μ m medido en material cadavérico fresco(26), lo cuál es muy delgado para ser detectado en estudios de Resonancia Magnética (MR) convencional de baja resolución. Han sido definidos al menos 3 criterios para medir invasión al seno cavernoso: la clasificación de Knosp (Figura 8)(27), el porcentaje de envolvimiento de la arteria carótida interna y el re – emplazo de los compartimientos del seno cavernoso por los tumores hipofisarios(28); sin embargo, los 3 criterios fallan en definir detalladamente en como los tumores pasan a través de la pared medial del seno cavernoso para infiltrar sus compartimientos(29). Para la evaluación pre – operatoria del seno cavernoso, buscando un valor predictivo positivo alto en la predicción de invasión al seno cavernoso, se requieren estudios de resonancia de alta definición, por ejemplo, secuencias de imagen en PDWI(29); con estas secuencias se pueden definir algunos criterios de invasión al seno cavernoso, como la interrupción en la continuidad de la pared medial del seno cavernoso, y la invasión de algunos compartimientos de este por la lesión.

Por imagen, los compartimientos del seno cavernoso se definen de la siguiente manera: 1) Compartimiento medial, el cuál se encuentra entre la Arteria Carótida Interna (ACI) y la fosa hipofisaria; 2) compartimiento superior, el cuál se encuentra por arriba de la ACI; 3) compartimiento lateral, compartimiento venoso lateral a la ACI; 4) compartimiento del surco cavernoso, entre la ACI y el surco carotídeo del cuerpo del esfenoides;

5)compartimiento ínfero – lateral, entre los compartimientos del surco carotídeo y el venoso. La obliteración del compartimiento venoso por el tumor y el envolvimiento de >67% de la circunferencia de la ACI tienen un valor predictivo positivo >95% para predecir invasión al seno cavernoso(28).

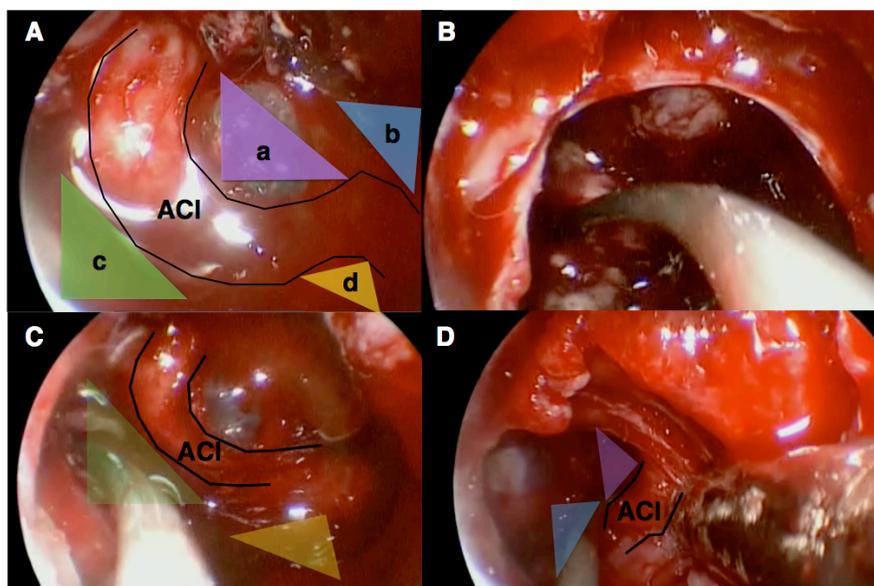
Encontramos una relación estadísticamente significativa entre el tamaño de la lesión, evaluada esta comparando las tasas de invasión al seno cavernoso en micro, macro y adenomas gigantes, y comparando las distribuciones del valor de volumetría de las lesiones con invasión al seno cavernoso, respecto a las que no tenían extensión paraselar, encontrando en ambos análisis una diferencia estadísticamente significativa, lo cuál va en relación a lo publicado en la literatura internacional, y nos habla de una relación entre el comportamiento de la lesión respecto a su extensión e invasión. Esto va también en relación al pronóstico que se ofrece al paciente, ya que las lesiones con una volumetría <10cm³ tienen más del 80% de posibilidades de curarse, y las lesiones de > 10cm³, tienen tasas de curación < 60%, porcentaje que disminuye incluso a < 40% en el caso de lesiones invasivas al seno cavernoso. Estos parámetros además de modificar el pronóstico, también cambia el plan quirúrgico y de manejo coadyvante(30). Existe controversia, en su mayoría justificada, sobre el mejor abordaje para lesiones con invasión al seno cavernoso. Actualmente la Radiocirugía se presenta como una excelente opción en algunos casos de lesiones con invasión al seno cavernoso. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado en la literatura, hay lesiones cuyo manejo primario continúa siendo el quirúrgico(31).

En el caso de Adenomas hipofisarios, la evidencia aún es limitada desde el punto de vista metodológico. Los estudios publicados mencionan la experiencia quirúrgica y radioquirúrgica de los diferentes centros de alta concentración de pacientes con Adenomas Hipofisarios, y como parte de análisis multivariados, llegan a conclusiones respecto al pronóstico con cada modalidad de tratamiento en pacientes cuyas lesiones invaden el seno cavernoso.

El punto de discusión respecto al abordaje quirúrgico radical en lesiones invasivas al seno cavernoso y abordajes menos radicales, con tratamiento suplementario posterior, se basa en el pronóstico con cada modalidad terapéutica, balanceado con los riesgos a los que se somete el paciente. En el caso de los adenomas hipofisarios, ambos puntos dependen de diferentes variables, que van desde la experiencia del cirujano, hasta la disponibilidad de

recursos en el centro hospitalario. La información es muy variada y de pobre rigor científico.

Los resultados quirúrgicos reportados en el abordaje de adenomas hipofisarios (Figura 9) con invasión al seno cavernoso son muy variables, siendo en promedio, tasas de curaciones no mayores al 50%; en el caso de la radiocirugía, las tasas de control de la enfermedad son similares. Un punto a tomar en consideración, es la actividad bioquímica de la lesión, a que las lesiones productoras de hormonas, solo se curan desde el punto de vista quirúrgico, al dar un manejo radical a la invasión al seno cavernoso, y las tasas de respuesta a manejo terapéutico coadyuvante con radiocirugía son menores respecto al manejo quirúrgico al seno cavernoso(32, 33).



*Figura 8. Corredores Quirúrgicos al Seno cavernoso por vía trans – selar lateral. A) Espacios o corredores quirúrgicos en el abordaje trans – selar lateral: **a**, corredor antero – superior; **b**, corredor postero – superior; **c**, corredor antero – inferior; **d**, corredor postero – inferior. B) uso de instrumental angulado a 45 – 90° para acceso lateral al seno cavernoso. C) Ejemplo de acceso a través del corredor antero – inferior. D) Ejemplo de acceso a través del corredor postero – superior. ACI: Arteria Carótida Interna*

Adenomas Agresivos

Los adenomas hipofisarios clínicamente agresivos pueden ser micro o macroadenomas, invasivos o no invasivos o tumores de crecimiento expansivo, y su principal característica son las altas tasas de recurrencia. Aunque los adenomas atípicos (de

acuerdo a la clasificación de la OMS) y las lesiones agresivas desde el punto de vista clínico, pueden compartir algunas características, hay algunas que solo tienen aquellas lesiones de comportamiento agresivo.

Los parámetros para definir lesiones agresivas han sido definidas desde el punto de vista clínico e histopatológico. Los parámetros que se han estudiado y aceptado como parámetros de agresividad son:

- Índice de Ki – 67 >3%: el cuál es un parámetro de proliferación celular, que se expresa en el núcleo celular. Su expresión nuclear del >3% puede predecir un comportamiento agresivo; sin embargo, los resultados en otros estudios son discrepantes y aún no hay un consenso en este parámetro(34). En el presente estudio reportamos un 15% de lesiones con expresión nuclear > 3% de Ki – 67, el cuál es un porcentaje alto respecto a lo reportado en la literatura(23); esto lo explicamos por el tipo de población que se atiende en nuestra institución, al ser un centro de referencia y no un centro hospitalario de población abierta. Al analizar la relación entre la expresión de Ki – 67 y otros parámetros clínicos y por imagen, encontramos una relación estadísticamente significativa entre la expresión nuclear elevada de Ki – 67 y el tamaño de la lesión, lo cuál, como se había mencionado anteriormente, se relaciona también con el grado de invasividad de las lesiones y la agresividad de las mismas.
- Parámetros clínicos de falta de respuesta al tratamiento, recidiva y progresión de la enfermedad: en los diferentes estudios clínicos publicados hasta la fecha se ha encontrado una tasa muy variable de respuesta al tratamiento tanto quirúrgico, como co – adyuvante. Desde este punto de vista, definimos como lesiones agresivas, aquellas que, después de un tratamiento quirúrgico, que puede o no ser radical, tienen progresión de la enfermedad, ya sea en forma de recidiva de la lesión, cuando la exéresis fue casi – total o total; o en forma de progresión de la enfermedad, cuando la exéresis de la lesión fue sub – total o parcial, y la lesión residual presenta progresión a pesar del manejo co – adyuvante, ya sea médico, o con radiocirugía. En nuestro estudio, fueron casi 19% de los pacientes, quienes presentaron recidiva o progresión de la enfermedad, a pesar del tratamiento quirúrgico y radio – quirúrgico, y por lo tanto, necesitaron una o más nuevas cirugías.

- Otros parámetros estudiados: el estudio histopatológico detallado de las lesiones hipofisarias, puede ayudar a identificar las características de las lesiones con comportamiento agresivo, por ejemplo, la expresión de las llamadas células de Crooke, se relaciona a un curso clínico agresivo (35). Se ha mencionado que los adenomas que expresan ACTH, pero no producen un síndrome clínico de Enfermedad de Cushing, es decir, adenomas ACTH silentes, son más agresivos, tienen mayores tasas de invasión al seno cavernoso y recurren con mayor frecuencia, sin embargo, estos hallazgos son controversiales, y falta su validación(36); en el presente estudio encontramos que los Adenomas silentes a ACTH presentaron un mayor tamaño y una mayor tasa de invasividad, respecto a lesiones que no presentaron dicho comportamiento inmunohistoquímico, y una tendencia a ser lesiones con expresión de Ki – 67 positiva. En otros estudios se ha reportado que las lesiones sin expresión hormonal por inmunohistoquímica son lesiones menos agresivas e invasivas, en este estudio encontramos que la falta de expresión de algún marcador hormonal por inmunohistoquímica se relacionó a lesiones de mayor tamaño, clasificadas como adenomas gigantes.

Lesiones funcionantes y lesiones no funcionantes

Como se mencionó en la introducción, las lesiones hipofisarias, pueden ser clasificadas como funcionantes y no funcionantes. Esto de acuerdo a la actividad bioquímica hormonal de la lesión; las lesiones no funcionantes, condicionan síndromes clínicos asociados al efecto de masa de la lesión sobre las estructuras adyacentes, siendo el más frecuente, una hemianopsia bitemporal por compresión del quiasma óptico; si la lesión produce síntomas y signos, además del efecto compresivo sobre estructuras adyacentes, por hiper – producción hormonal, se les clasifica como lesiones funcionantes; los síndromes clínicos mas frecuentes son la Hiperprolactinemia, que produce el síndrome de Castillo – Ahumanda; la producción elevada de GH, que produce acromegalia; y la producción elevada de ACTH, que produce Enfermedad de Cushing; el plan terapéutico en ambos tipos de lesiones es diferente, ya que en las lesiones no funcionantes, el objetivo del tratamiento va encaminado a resolver el efecto compresivo sobre estructuras adyacentes, y se puede hacer una exéresis no necesariamente total, con lesión residual post – operatoria, con la opción de Radiocirugía como manejo coadyuvante, resolviendo así el efecto compresivo de

la lesión, por la devastación de la misma, lo cuál debe resolver o mejorar la clínica del paciente; sin embargo, en el caso de lesiones funcionantes, el objetivo, además de resolver el efecto compresivo sobre estructuras adyacentes, debe ser resolver el síndrome clínico por hiperproducción hormonal, para lo cuál, se requieren exéresis radicales de la lesión, y aunque también existe la opción de radiocirugía en caso de lesión residual, las tasas de control de la enfermedad son menores respecto a la cirugía(2, 31, 32, 37-41).

En el presente estudio un 82.5% de lesiones no funcionantes y 16.5% de lesiones funcionantes; el síndrome clínico más frecuente asociado a hiper – producción hormonal fue la acromegalia, seguido de la hiperprolactinemia y la enfermedad de Cushing; se logró una curación bioquímica en el 76.9% de las lesiones Funcionantes, lo cuál es un porcentaje de acuerdo a lo publicado en la literatura internacional. En el caso de las lesiones No funcionantes, se logró curación de la enfermedad en el 26.9% de los casos, lo cuál está por debajo de lo reportado en la literatura internacional; y se logró control de la enfermedad en 72.7% de las lesiones, es decir, aunque hay lesión residual en los estudios de control, esta es estable y no ha requerido nuevo tratamiento.

Expresión de Endoplasmina en Adenomas Hipofisarios

El objetivo primario del estudio fue el hacer un análisis de la expresión de Endoplasmina en Adenomas Hipofisarios, y observar la relación entre la expresión de Endoplasmina, y los diferentes parámetros de Agresividad e Invasividad de las lesiones. Esto basado en el antecedente inmediato que se tiene en esta institución, como parte del trabajo de Tesis para grado de Neurocirujano del Dr. Arturo Sotomayor González, en el patrón proteómico de adenomas hipofisarios no funcionales, realizado en esta institución en colaboración con el CONACYT en el 2012, mostró una sobre – expresión de HSP90b en Adenomas Hipofisarios agresivos, hallazgo que sugiere que esta proteína podría ser un marcador biológico de agresividad en estas lesiones, y actuar como factor pronóstico, además de su posible rol como blanco terapéutico. Este estudio fue realizado en 17 sujetos con diagnóstico de adenoma hipofisario no funcionante; para realizar la confrontación de geles se utilizó el mapa proteómico publicado por Desiderio y cols. del proteoma de la célula de adenohipófisis normal. Así mismo, para el análisis se formaron grupos en base al sexo de los pacientes analizando masculino contra femenino y al grado de agresividad de

los tumores en base a si presentan datos radiológicos de invasividad o no. El resultado de este análisis mostró sobre-expresión de una mancha en la región 2 de los geles analizados, que por estudio de espectrometría de masas se identificó como la proteína HSP90B1 (Endoplasmina). Este resultado fue estadísticamente significativo en 7 muestras de pacientes con lesiones invasivas vs. 10 muestras de lesiones de pacientes con lesiones no invasivas. Las técnicas de proteómica son costosas y se requieren muchos recursos para poder analizar un número importante de muestras. Las técnicas de proteómica actuales sugieren la confirmación de los hallazgos encontrados por estas técnicas, con otras menos costosas, como la inmunohistoquímica, la cuál tiene resultados confiables y reproducibles; además, se encuentra en el mercado ya diferentes variedades de Inmunomarcadores para proteína HSP90B1 probados en otras lesiones, con buenos resultados como se mencionaba anteriormente.

Los resultados de lo antes mencionado arrojan varios datos interesantes respecto a esta proteína, en relación a su expresión en adenomas hipofisarios; en primer lugar, encontramos que la mayoría de las lesiones tienen cierto grado de expresión de Endoplasmina, la cuál es mayor respecto al control positivo que se usó en el presente estudio (tejido neural); en total 85% de las lesiones presentaron algún grado de expresión de Endoplasmina, y solo 15% de las lesiones no la presentaron; de las lesiones que presentaron expresión positiva a Endoplasmina 58.8% expresaron de forma importante la proteína; la expresión se dio tanto en lesiones funcionantes, como en no funcionantes, y sin relación al género de los pacientes.

Así mismo, la expresión de esta proteína no se relacionó al grado de invasividad de las lesiones, ni de agresividad, de acuerdo a los parámetros tomados en cuenta para definir ambos puntos. Tampoco se relacionó con la expresión de otros marcadores inmunohistoquímicos intracelulares, como los hormonales, ni con los patámetros nucleares de proliferación celular, en este caso, Ki – 67. Estos resultados contrastan con nuestra hipótesis de trabajo, y confirma la hipótesis nula, es decir, la falta de asociación entre el grado de expresión de Endoplasmina, y la evolución clínica de los pacientes con Adenomas Hipofisarios. Al separar el análisis en los diferentes parámetros de tamaño de las lesiones, invasividad al seno cavernoso, expresión de Ki – 67, etc. se confirma esta falta de relación entre el grado de Expresión de Endoplasmina y otros parámetros clínicos y de evolución.

Estos hallazgos, nos arrojan a la Endoplasmina, como un parámetro bioquímico independiente en el estudio de Adenomas Hipofisarios, cuyo significado clínico será importante una vez que se aprueben antagonistas de esta proteína por las diferentes comisiones de control de calidad y seguridad de medicamentos en diferentes países, fármacos que aún se encuentran en etapa experimental en otras patologías, como CA epiteliales y CA de mama. En 1994 se identificó que esta proteína es sitio de acción de medicamentos antineoplásicos, como las Benzoquinonas, las cuales son capaces de competir con el ATP en el sitio de unión de nucleótidos del complejo HSP90, resultando en disrupción de su función, efectivo en tumores sólidos como el cáncer de colon, tumores dependientes de receptores hormonales en cáncer de mama y prostático. Existe incluso un reporte de disrupción del complejo EF-2 cinasa / HSP90 como método de inhibir cultivos celulares de Glioblastoma. Existen reportes de inhibidores de HSP90 que actúan en la disminución en la regulación de la expresión de PTTG humana / Securina mRNA(42).

CONCLUSIONES

1. En nuestra población encontramos que la mayoría de las lesiones se clasifican en la clasificación de Hardy – Vezina tamaño \geq IIC son del 68.9% y un grado $>$ a Knosp 2 en el 51.4% de las lesiones que comprometían el seno cavernoso lateral a la línea intercarotídea medial por lo tanto la mayoría son tumores altamente invasivos
2. La Endoplasmina es un marcador bioquímico citoplasmático con expresión variable en los adenomas hipofisarios, siendo reactivos $>$ 80% de levemente positivo a positivo de las lesiones estudiadas; su expresión no tiene relación al comportamiento clínico de la lesión respecto a su Agresividad e Invasividad.
3. Encontramos que los diámetros de las lesiones son similares en los 3 ejes de la lesión, con un mayor diámetro en el eje Dorso – Ventral, en donde encontramos que el diámetro promedio fue de 32.1mm; la volumetría promedio de las lesiones fue de 16.5mm³.
4. Se encontró que el 67.5% de las lesiones cumplieron parámetros de invasividad, esto es, 54 pacientes en total.
5. Se encontró una relación entre la invasividad de la lesión por resonancia magnética y la posibilidad de recidiva / progresión de la enfermedad.
6. Reportamos en el presente trabajo una tasa de invasión al seno cavernoso del 51.3%, con una relación significativa con el tamaño del tumor.
7. Las lesiones negativas a TSH y FSH fueron más invasivas al seno cavernoso; así como las positivas a GH, también mostraron un comportamiento más invasivo paraselar.
8. En las lesiones no funcionantes observamos una relación entre la agresividad y la invasividad de la lesión, y la posibilidad de recidiva y progresión de la enfermedad y la volumetría de la lesión.
9. Hay una relación para expresión de GH y la invasividad de la lesión, siendo las lesiones negativas a GH mas invasivas desde el punto de vista imagenológico; así mismo encontramos una tendencia de las lesiones positivas a ACTH a ser lesiones de mayor tamaño desde el punto de vista volumétrico, más invasivas, y a tener un mayor índice de agresividad positivo (Ki – 67. Las lesiones negativas a FSH tuvieron mayor incidencia

de apoplejía respecto a las positivas. Las lesiones sin expresión de marcadores hormonales (Null), fueron con mayor frecuencia Adenomas Gigantes.

10. La expresión de Ki – 67 se relaciona con el tamaño de la lesión, siendo su expresión mayor en lesiones >40mm en su diámetro máximo y en lesiones >10cm³ de volumetría.

11. Un total de 32.5% cumplieron con parámetros de agresividad, es decir, 26 casos.

REFERENCIAS

References

1. Melmed S. Update in pituitary disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008 Feb;93(2):331-8. PubMed PMID: 18258780.
2. Buchfelder M. Management of aggressive pituitary adenomas: current treatment strategies. *Pituitary*. 2009;12(3):256-60. PubMed PMID: 19003540.
3. Zada G, Woodmansee WW, Ramkissoon S, Amadio J, Nose V, Laws ER, Jr. Atypical pituitary adenomas: incidence, clinical characteristics, and implications. *Journal of neurosurgery*. 2011 Feb;114(2):336-44. PubMed PMID: 20868211.
4. Boguski MS, McIntosh MW. Biomedical informatics for proteomics. *Nature*. 2003 Mar 13;422(6928):233-7. PubMed PMID: 12634797.
5. Dekkers OM, Pereira AM, Romijn JA. Treatment and follow-up of clinically nonfunctioning pituitary macroadenomas. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008 Oct;93(10):3717-26. PubMed PMID: 18682516.
6. Shrestha R, Qi L, Bao G, Wang MD. Prospective study of transsphenoidal pituitary surgery: is tumor volume a predictor for the residual tumor? *Chinese medical journal*. 2012 Jul;125(14):2444-8. PubMed PMID: 22882919.
7. Ensenat J, Ortega A, Topcewski T, Vilalta J, Obiols G, Mesa J, et al. [Predictive value of the Knosp classification in grading the surgical resection of invasive pituitary macroadenomas. A prospective study of 23 cases]. *Neurocirugia*. 2006 Dec;17(6):519-26. PubMed PMID: 17242839. Valor predictivo de la clasificacion de Knosp en el grado de reseccion quirurgica de los macroadenomas invasivos. Estudio prospectivo de una serie de 23 casos.
8. Anagnostis P, Adamidou F, Polyzos SA, Efstathiadou Z, Panagiotou A, Kita M. Non-functioning pituitary adenomas: a single center experience. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2011 May;119(5):314-9. PubMed PMID: 21264809.
9. Ceylan S, Koc K, Anik I. Endoscopic endonasal transsphenoidal approach for pituitary adenomas invading the cavernous sinus. *Journal of neurosurgery*. 2010 Jan;112(1):99-107. PubMed PMID: 19480546.
10. Sreedhar AS, Kalmar E, Csermely P, Shen YF. Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance. *FEBS letters*. 2004 Mar 26;562(1-3):11-5. PubMed PMID: 15069952.
11. Yang J, Yang JM, Iannone M, Shih WJ, Lin Y, Hait WN. Disruption of the EF-2 kinase/Hsp90 protein complex: a possible mechanism to inhibit glioblastoma by geldanamycin. *Cancer research*. 2001 May 15;61(10):4010-6. PubMed PMID: 11358819.
12. Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C. The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2003 Aug;14(8):1169-76. PubMed PMID: 12881371.
13. Cawthorn TR, Moreno JC, Dharsee M, Tran-Thanh D, Ackloo S, Zhu PH, et al. Proteomic analyses reveal high expression of decorin and endoplasmin (HSP90B1) are associated with breast cancer metastasis and decreased survival. *PloS one*. 2012;7(2):e30992. PubMed PMID: 22363530. Pubmed Central PMCID: 3282708.
14. Liu X, Ye L, Wang J, Fan D. Expression of heat shock protein 90 beta in human gastric cancer tissue and SGC7901/VCR of MDR-type gastric cancer cell line. *Chinese medical journal*. 1999 Dec;112(12):1133-7. PubMed PMID: 11721455.
15. Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, De A. IHC Profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples. *PloS one*. 2014;9(5):e96801. PubMed PMID: 24802416. Pubmed Central PMCID: 4011881.
16. Hirano H, Yonezawa H, Yunoue S, Habu M, Uchida H, Yoshioka T, et al. Immunoreactivity of Wnt5a, Fzd2, Fzd6, and Ryk in glioblastoma: evaluative methodology for DAB chromogenic immunostaining. *Brain tumor pathology*. 2014 Apr;31(2):85-93. PubMed PMID: 23748645.
17. Bigras G. Color deconvolution. Optimizing handling of 3D unitary optical density vectors with polar coordinates. *Analytical and quantitative cytology and histology / the International Academy of Cytology [and] American Society of Cytology*. 2012 Jun;34(3):149-60. PubMed PMID: 23016461.
18. Helps SC, Thornton E, Kleinig TJ, Manavis J, Vink R. Automatic nonsubjective estimation of antigen content visualized by immunohistochemistry using color deconvolution. *Applied*

immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM / official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry. 2012 Jan;20(1):82-90. PubMed PMID: 22157059.

19. Halushka MK, Cornish TC, Lu J, Selvin S, Selvin E. Creation, validation, and quantitative analysis of protein expression in vascular tissue microarrays. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. 2010 May-Jun;19(3):136-46. PubMed PMID: 19211265. Pubmed Central PMCID: 2866781.

20. Benitez MJ, Sanchez-Ponce D, Garrido JJ, Wandosell F. Hsp90 activity is necessary to acquire a proper neuronal polarization. *Biochimica et biophysica acta*. 2014 Feb;1843(2):245-52. PubMed PMID: 24286867.

21. McCormack AI, Wass JA, Grossman AB. Aggressive pituitary tumours: the role of temozolomide and the assessment of MGMT status. *European journal of clinical investigation*. 2011 Oct;41(10):1133-48. PubMed PMID: 21496012.

22. Meij BP, Lopes MB, Ellegala DB, Alden TD, Laws ER, Jr. The long-term significance of microscopic dural invasion in 354 patients with pituitary adenomas treated with transsphenoidal surgery. *Journal of neurosurgery*. 2002 Feb;96(2):195-208. PubMed PMID: 11838791.

23. Di Ieva A, Rotondo F, Syro LV, Cusimano MD, Kovacs K. Aggressive pituitary adenomas--diagnosis and emerging treatments. *Nature reviews Endocrinology*. 2014 Jul;10(7):423-35. PubMed PMID: 24821329.

24. Fahlbusch R BM, Nomikos P. Management Options in the treatment of Invasive Pituitary Tumors; the Cavernous Sinus: A Comprehensive Text. M B Eisenberg OA-M, editor. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000.

25. Frank G, Pasquini E. Endoscopic endonasal approaches to the cavernous sinus: surgical approaches. *Neurosurgery*. 2002 Mar;50(3):675. PubMed PMID: 11890157.

26. Yasuda A, Campero A, Martins C, Rhoton AL, Jr., Ribas GC. The medial wall of the cavernous sinus: microsurgical anatomy. *Neurosurgery*. 2004 Jul;55(1):179-89; discussion 89-90. PubMed PMID: 15214988.

27. Knosp E, Steiner E, Kitz K, Matula C. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings. *Neurosurgery*. 1993 Oct;33(4):610-7; discussion 7-8. PubMed PMID: 8232800.

28. Cottier JP, Destrieux C, Brunereau L, Bertrand P, Moreau L, Jan M, et al. Cavernous sinus invasion by pituitary adenoma: MR imaging. *Radiology*. 2000 May;215(2):463-9. PubMed PMID: 10796926.

29. Cao L, Chen H, Hong J, Ma M, Zhong Q, Wang S. Magnetic resonance imaging appearance of the medial wall of the cavernous sinus for the assessment of cavernous sinus invasion by pituitary adenomas. *Journal of neuroradiology Journal de neuroradiologie*. 2013 Oct;40(4):245-51. PubMed PMID: 23886874.

30. Koutourousiou M, Gardner PA, Fernandez-Miranda JC, Paluzzi A, Wang EW, Snyderman CH. Endoscopic endonasal surgery for giant pituitary adenomas: advantages and limitations. *Journal of neurosurgery*. 2013 Mar;118(3):621-31. PubMed PMID: 23289816.

31. Castro DG, Cecilio SA, Canteras MM. Radiosurgery for pituitary adenomas: evaluation of its efficacy and safety. *Radiation oncology*. 2010;5:109. PubMed PMID: 21083925. Pubmed Central PMCID: 2994872.

32. Sheehan JP, Starke RM, Mathieu D, Young B, Sneed PK, Chiang VL, et al. Gamma Knife radiosurgery for the management of nonfunctioning pituitary adenomas: a multicenter study. *Journal of neurosurgery*. 2013 Aug;119(2):446-56. PubMed PMID: 23621595.

33. van Bunderen CC, van Varsseveld NC, Baayen JC, van Furth WR, Aliaga ES, Hazewinkel MJ, et al. Predictors of endoscopic transsphenoidal surgery outcome in acromegaly: patient and tumor characteristics evaluated by magnetic resonance imaging. *Pituitary*. 2013 Jun;16(2):158-67. PubMed PMID: 22535510. Pubmed Central PMCID: 3659272.

34. Kovacs K. The 2004 WHO classification of pituitary tumors: comments. *Acta neuropathologica*. 2006 Jan;111(1):62-3. PubMed PMID: 16315073.

35. George DH, Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Young WF, Jr., Lloyd RV, et al. Crooke's cell adenoma of the pituitary: an aggressive variant of corticotroph adenoma. *The American journal of surgical pathology*. 2003 Oct;27(10):1330-6. PubMed PMID: 14508394.

36. Jahangiri A, Wagner JR, Pekmezci M, Hiniker A, Chang EF, Kunwar S, et al. A comprehensive long-term retrospective analysis of silent corticotrophic adenomas vs hormone-negative adenomas. *Neurosurgery*. 2013 Jul;73(1):8-17; discussion -8. PubMed PMID: 23685641.

37. Cappabianca P, Cavallo LM, Colao A, Del Basso De Caro M, Esposito F, Cirillo S, et al. Endoscopic endonasal transsphenoidal approach: outcome analysis of 100 consecutive procedures. *Minimally invasive neurosurgery* : MIN. 2002 Dec;45(4):193-200. PubMed PMID: 12494353.
38. Pamir MN, Kilic T, Belirgen M, Abacioglu U, Karabekiroglu N. Pituitary adenomas treated with gamma knife radiosurgery: volumetric analysis of 100 cases with minimum 3 year follow-up. *Neurosurgery*. 2007 Aug;61(2):270-80; discussion 80. PubMed PMID: 17762739.
39. Sheehan JP, Xu Z, Lobo MJ. External beam radiation therapy and stereotactic radiosurgery for pituitary adenomas. *Neurosurgery clinics of North America*. 2012 Oct;23(4):571-86. PubMed PMID: 23040744.
40. Stapleton CJ, Liu CY, Weiss MH. The role of stereotactic radiosurgery in the multimodal management of growth hormone-secreting pituitary adenomas. *Neurosurgical focus*. 2010 Oct;29(4):E11. PubMed PMID: 20887121.
41. Yang I, Kim W, De Salles A, Bergsneider M. A systematic analysis of disease control in acromegaly treated with radiosurgery. *Neurosurgical focus*. 2010 Oct;29(4):E13. PubMed PMID: 20887123.
42. Bagatell R, Whitesell L. Altered Hsp90 function in cancer: a unique therapeutic opportunity. *Molecular cancer therapeutics*. 2004 Aug;3(8):1021-30. PubMed PMID: 15299085.