

ARTÍCULO ESPECIAL

Recomendaciones sobre el diagnóstico e informe anatomopatológico de los tumores neuroendocrinos hipofisarios. Consenso de expertos de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición y de la Sociedad Española de Anatomía Patológica



Antonio Picó^{a,*}, Ignacio Aranda-López^b, Gemma Sesnilo^c,
Óscar Toldos-González^d, Miguel A. Japón^e, Raúl M. Luque^f
y Manel Puig-Domingo^g

^a Servicio de Endocrinología y Nutrición, Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante-Hospital General Universitario de Alicante, Universidad Miguel Hernández, Alicante, España

^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario de Alicante/ISABIAL, Alicante, España

^c Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitari Dexeus, Barcelona, España

^d Sección de Neuropatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

^e Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

^f Grupo Obesidad y Metabolismo, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC); Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Universidad de Córdoba; Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba; Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Córdoba, España

^g Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona (Barcelona), España

Recibido el 10 de julio de 2020; aceptado el 17 de octubre de 2020

Disponible en Internet el 3 de febrero de 2021

PALABRAS CLAVE

Tumores
neuroendocrinos;
Anatomía patológica;
Inmunohistoquímica;
Recomendaciones de
expertos

Resumen Los tumores neuroendocrinos hipofisarios (TNEH) constituyen, junto con otros tumores de la región sellar, un 15-25% de las neoplasias intracraneales. En 2017, la Organización Mundial de la Salud propuso una nueva clasificación de los TNEH. La principal innovación respecto a la clasificación del 2004 fue la recomendación de incluir en la evaluación inmunohistoquímica de los TNEH la determinación de los factores de transcripción de las 3 líneas celulares hipofisarias: Pit-1, Tpit y SF-1. Adicionalmente, se han propuesto otras clasificaciones clínico-patológicas con capacidad predictora del comportamiento tumoral durante el

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: antonio.pico@umh.es (A. Picó).

seguimiento. Ante estos cambios, procede adaptar el conocimiento generado durante los últimos 15 años a la práctica diaria del tratamiento y seguimiento de los TNEH en los centros de excelencia de patología hipofisaria. El presente documento recoge el posicionamiento de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN) y la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) sobre la clasificación de los TNEH y la información que el patólogo debe proporcionar al clínico para facilitar el tratamiento y seguimiento de estos tumores.

© 2020 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de SEEN y SED. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Neuroendocrine tumors;
Pathology;
Immunohistochemistry;
Expert recommendations

Recommendations on the pathological report of pituitary tumors. A consensus of experts of the Spanish Society of Endocrinology and Nutrition and the Spanish Society of Pathology

Abstract Pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs) constitute, together with other tumors of the sellar region, 15-25% of intracranial neoplasms. In 2017, the World Health Organization proposed a new classification of PitNETs. The main innovation with respect to the 2004 classification was the recommendation to include in the immunohistochemical evaluation of PitNETs the determination of the transcription factors of the 3 pituitary cell lineages: Pit-1, Tpit and SF-1. Additionally, other clinicopathological classifications with a predictive capacity of tumor behavior during follow-up were proposed. Given these changes, it is appropriate to adapt the knowledge generated during the last 15 years to the daily practice of the treatment and monitoring of PitNETs at the Centers of Excellence in Pituitary Pathology. This document includes the positioning of the Spanish Society of Endocrinology and Nutrition (SEEN) and the Spanish Society of Pathology (SEAP) on the classification and denomination of the PitNETs and the information that the pathologist should provide to the clinician to facilitate the treatment and monitoring of these tumors.

© 2020 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEEN y SED. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Los tumores hipofisarios neuroendocrinos (TNEH)¹, junto con otros tumores de la región selar, constituyen un 15-25% de las neoplasias intracraneales¹⁻⁵. Su incidencia ha aumentado de forma progresiva y paralela al uso de técnicas de imagen cerebral y craneal cada vez más sensibles^{6,7}. Aunque en el 85-90% de los casos se trata de tumores adenohipofisarios, existen otras lesiones de la región selar, como las neoplasias mesenquimales, menígeas o de origen neural, las metástasis de múltiples orígenes y los quistes o procesos inflamatorios²⁻⁵.

Históricamente, los TNEH se han denominado adenomas debido a su habitual comportamiento indolente respecto a otras neoplasias y tumores neuroendocrinos de otras localizaciones. Recientemente, el *International Pituitary Pathology Club*, en su decimocuarta reunión celebrada en Anney en noviembre de 2016, propuso sustituir el término adenoma por el de tumor hipofisario neuroendocrino (TNEH)¹. Este término reflejaría mejor, según los autores del documento, las similitudes entre los tumores adenohipofisarios y los tumores neuroendocrinos de otros órganos y el comportamiento agresivo de algunos de los primeros. Sin embargo, esta propuesta ha sido motivo reciente de controversia^{8,9}.

El debate terminológico se extiende también al uso generalizado del acrónimo genérico NFPA (del inglés *non-functioning pituitary adenomas*). Todos los subtipos de TNEH hormonalmente activos tienen homólogos silentes que se han agrupado bajo el acrónimo NFPA. El término adenoma hipofisario silente o TNEH silente describe los tumores adenohipofisarios que expresan una o más hormonas adenohipofisarias o sus factores de transcripción en la inmunohistoquímica (IHQ) pero no secretan hormonas en concentraciones clínicamente relevantes^{5,10,11}. Sin embargo, ambos términos han sido utilizados de manera indistinta en la literatura para referirse al mismo tipo de tumor.

La reciente clasificación de la OMS de 2017 agrupa los TNEH en las 3 líneas celulares de la adenohipófisis de las que proceden mediante la determinación IHQ de los correspondientes factores de transcripción hipofisarios (FTH). Este agrupamiento facilita una aproximación diferente al diagnóstico patológico de los TNEH. En concreto, ha permitido reducir de forma drástica el porcentaje de tumores nulos y establecer una clasificación más precisa de los tumores plurihormonales^{10,12}. Además, se ha propuesto que en el informe del patólogo figuren también datos clínicos (tumor funcionante/silente; presencia y grado de invasión radiológica) y datos de actividad proliferativa (MIB1-LI/Ki-67, número de mitosis y p53). El objetivo final ha sido diseñar

Tabla 1 Clasificación de los tumores neuroendocrinos hipofisarios

Tipo de adenoma o TNEH	Variante morfológica	Hormonas hipofisarias y otros inmunomarcadores	FTH y otros cofactores
Adenoma somatotropo	Densamente granulado	GH ± PRL ± subunidad α Patrón perinuclear o difuso de citoqueratinas	PIT-1
	Escasamente granulado	GH ± PRL, patrón en gota de citoqueratinas	PIT-1
	Mamosomatotropo	GH + PRL (en mismas células) ± subunidad α	PIT-1, ER α
	Mixto somatotropo-lactotropo	GH + PRL (en células diferentes) ± subunidad α	PIT-1, ER α
Adenoma lactotropo	Densamente granulado	PRL difusa	PIT-1, ER α
	Escasamente granulado	PRL perinuclear	PIT-1, ER α
	Acidófilo de células madre	PRL, GH (focal y variable) Patrón en gota de citoqueratinas	PIT-1, ER α
Adenoma tirotrópico		β -TSH, subunidad α	PIT1, GATA2
Adenoma corticotropo	Densamente granulado ^a	ACTH Patrón difuso de citoqueratinas	T-PIT
	Escasamente granulado	ACTH Patrón difuso de citoqueratinas	T-PIT
	De células de Crooke	ACTH	T-PIT
Adenoma gonadotropo		β -FSH, β -LH ± subunidad α	SF-1, GATA2, ER α
Adenomas de células nulas		Ninguno	Ninguno
Adenoma plurihormonal	Adenoma plurihormonal PIT-1	GH, PRL, β -TSH ± subunidad α	PIT-1
	Adenomas con combinaciones inusuales	Combinaciones diversas: ACTH/GH, ACTH/PRL	N/A

Modificado de la clasificación de la OMS de adenomas de la glándula hipofisaria². FTH: Factores de transcripción hipofisarios.

una clasificación clínico-patológica de los TNEH con capacidad pronóstica de su comportamiento¹³⁻¹⁵. Esta propuesta ha sido respaldada por el *European Pituitary Pathology Group*¹⁶. Sin embargo, no todos los patólogos están de acuerdo, pues consideran que dicho informe solo estaría al alcance de centros de excelencia con disponibilidad de neuropatólogos especializados en enfermedad hipofisaria. Por el contrario, sostienen que es suficiente con que el informe del patólogo recoja datos macroscópicos, de tinción de hematoxilina-eosina, de inmunotinción de las hormonas adenohipofisarias y del MIB1-LI/Ki-67¹⁷.

En cualquiera de los casos, el informe del patólogo es esencial para la correcta planificación del tratamiento y seguimiento de los TNEH. Por tanto, los patólogos deben formar parte de los equipos clínicos multidisciplinares que atienden a pacientes con enfermedad tumoral hipofisaria.

Los recientes cambios introducidos por la clasificación de la OMS en 2017² y las controversias terminológicas con relación a los tumores neuroendocrinos y en el contenido del informe del patólogo justifican este documento. El objetivo es establecer el posicionamiento del Área de Conocimiento de Neuroendocrinología de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN) y de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) sobre la clasificación y denominación de los TNEH y la información que el patólogo debe proporcionar al clínico (endocrinólogo/neurocirujano) para facilitar el tratamiento y seguimiento de estos tumores.

La nueva clasificación de los tumores hipofisarios neuroendocrinos de 2017: ¿cuáles son sus aportaciones?

En 2017 se publicó la cuarta edición de la clasificación de tumores de los órganos endocrinos de la OMS², con el objetivo de servir de referencia para todos los especialistas implicados en su diagnóstico y tratamiento. En esta edición se ha tenido en cuenta la expresión de los FTH de las líneas celulares hipofisarias, junto a las características estructurales y alteraciones genéticas de los TNEH (tabla 1). Como principales novedades se señalan las siguientes:

- Se recomienda determinar los FTH de las 3 líneas celulares hipofisarias: el factor de transcripción 1 específico de la hipófisis (Pit-1), el factor de transcripción T-PIT y el factor esteroideogénico-1 (SF-1).
- Se elimina el término de *adenoma atípico*, propuesto en la clasificación del 2004. En cambio, se identifican subtipos de *alto riesgo*, caracterizados por mayor capacidad de invadir, recidivar y metastatizar que los otros TNEH.
- Se mantiene la recomendación de determinar el índice MIB1-LI/Ki-67 como marcador proliferativo y se relega la determinación de p53 a aquellos tumores con Ki-67 \geq 3%.
- Se incluye el blastoma hipofisario como nueva entidad.

La determinación IHQ adicional de las hormonas adenohipofisarias y de las citoqueratinas de bajo peso molecular permite identificar tipos de TNEH con variantes relacionadas con aspectos estructurales y predictivos de comportamiento.

La clasificación permite, además, identificar variantes homólogas silentes de los distintos subtipos funcionantes y reducir de forma significativa el porcentaje de tumores verdaderamente nulos.

Los tumores hipofisarios neuroendocrinos no funcionantes

Desde la proliferación de técnicas de imagen muy sensibles, los TNEH no funcionantes son los tumores neuroendocrinos hipofisarios diagnosticados con mayor frecuencia, tanto en las series quirúrgicas como en las no quirúrgicas¹⁸. Los TNEH que no asocian un síndrome clínico hormonal reconocible se han agrupado, históricamente, bajo el acrónimo NFPA. Los NFPA son casi siempre macroadenomas y pueden presentar síntomas relacionados con el efecto masa (cefalea o alteraciones neurooftalmológicas), hipopituitarismo parcial o completo, hiperprolactinemia o ser descubiertos de manera incidental en una resonancia nuclear magnética cerebral. Cuando tras la cirugía se identifica la línea celular de la que deriva el tumor y este no asocia un síndrome endocrino sistémico, el tumor se denomina *silente*^{5,10,11}. Por tanto, tras la cirugía, el término NFPA debería ser sustituido por el tipo celular del tumor que corresponda acompañado del adjetivo *silente*; por ejemplo, TNEH corticotropo silente, lactotropo silente, etc., de forma que se distinga de la variante funcionante respectiva. Alrededor de un 10% de los TNEH gonadotropos son funcionantes¹⁹. Por tanto, los adjetivos *silente* y *funcionante* también deberían aplicarse a este subtipo de TNEH. Los TNEH de células nulas, cada vez menos frecuentes conforme ha avanzado la precisión de las técnicas diagnósticas, deberían etiquetarse como tales. El espectro clínico de los TNEH muestra un continuo de secreción hormonal entre tumores funcionantes y completamente silentes²⁰. La expresión *completamente silente* se ha referido a tumores hipofisarios de un determinado subtipo que cursan con concentraciones circulantes de la hormona correspondiente rigurosamente normales²¹. El término *clínicamente silente* se referiría a tumores que cursan con concentraciones hormonales circulantes algo elevadas de forma autónoma, pero sin expresar el correspondiente síndrome clínico²¹. Además, el estado funcional de un TNEH puede cambiar durante el seguimiento, con mayor frecuencia en el caso de los tumores de estirpe corticotropa²²⁻²⁴.

Sin duda, esta heterogeneidad terminológica ha condicionado los resultados y las conclusiones de muchas de las series publicadas. La tipificación patológica cada vez más precisa de los TNEH ha permitido identificar la identidad celular de más del 95% de los tumores hipofisarios y ha reducido el porcentaje de tumores nulos por debajo del 3%^{10,25,26}. Por tanto, y debido al diferente comportamiento de los tumores procedentes de diferentes células hipofisarias, el término NFPA debería utilizarse para los TNEH que no asocian un síndrome endocrino exclusivamente antes de la cirugía y sustituirse después por el subtipo silente correspondiente.

El tumor agresivo

La definición de *tumor agresivo* es controvertida y también se ha utilizado de forma heterogénea en la literatura. En la clasificación de la OMS de 2004 se introdujo el concepto de *adenoma atípico* para referirse a aquellos adenomas que presentaban: 1) un índice mitótico > 10 mitosis por campo; 2) un índice de proliferación Ki-67 $\geq 3\%$ y 3) una fuerte tinción nuclear para p53. En la clasificación de la OMS de 2017 se elimina el término de *adenoma atípico*. En su lugar, se reconoce la existencia de subtipos de adenomas de elevado riesgo por su peor pronóstico durante el seguimiento: los lactotropos en varones, los corticotropos silentes y los adenomas de células de Crooke, los somatotropos poco granulados y los tumores plurihormonales Pit-1 silentes. Los plurihormonales Pit-1 sustituyen al antes denominado subtipo 3, un tumor caracterizado por su aparición en pacientes jóvenes y con mayor tasa de enfermedad persistente o recurrente durante el seguimiento²⁷. Además, se continúa recomendando la inmunotinción de Ki-67 como criterio de proliferación y la de p53 solo cuando aquella es $\geq 3\%$.

Recientemente, la Sociedad Europea de Endocrinología²⁸ ha definido al tumor hipofisario agresivo como «tumor grande, con invasión radiológica de las estructuras adyacentes y con un crecimiento inusual o con presencia de recurrencias pese a recibir un tratamiento óptimo». Sin embargo, con frecuencia, se confunden los conceptos de invasión y agresividad, ya que un tumor invasivo puede no ser agresivo mientras que todos los tumores agresivos son invasivos. Por tanto, ante la discrepancia de criterios clínicos y patológicos, es necesario diferenciar estos conceptos: 1) *invasión*: invasión radiológica o anatómica de los senos adyacentes a la silla turca, con independencia de la expresión de Ki-67; 2) *proliferación*: inmunotinción de MIB1-LI/Ki-67 $\geq 3\%$, con independencia de la presencia o no de invasión y 3) *agresividad*: tumor invasivo que recidiva o crece durante el seguimiento pese a recibir el correcto tratamiento, con independencia de los marcadores de proliferación.

¿Tumor de células nulas o tumor inmunonegativo?

El tumor de células nulas es un tumor de células adenohipofisarias que no muestran una diferenciación celular específica en la IHQ de las hormonas adenohipofisarias o de los FTH. Por tanto, como sinónimos, se han propuesto los términos de *adenoma inmunonegativo para hormonas hipofisarias* o *adenoma inmunonegativo para FTH*²⁹. Desde una perspectiva microscópica, está formado por células cromóforas o algo acidófilas, ordenadas con un patrón en forma de hoja. Se diferencian de los gonadotropinomas en que son menos frecuentes los patrones de crecimiento papilar o pseudopapilar. Su prevalencia ha cambiado mucho en las series recientes, a raíz del uso de anticuerpos más específicos frente a las hormonas hipofisarias¹⁵, del estudio IHQ de los FTH¹⁰ y de los estudios moleculares de expresión génica de las hormonas hipofisarias^{30,31} y de sus FTH²⁶. Su prevalencia actual es inferior al 3% en todas las series mencionadas, cuando en un principio se habían descrito prevalencias entre un 5 y un 30% de las series quirúrgicas^{32,33}.

Con las nuevas técnicas, la mayoría de los tumores considerados en principio como nulos se reclasifican como

Tabla 2 Información que el clínico (endocrinólogo/neurocirujano) debe proporcionar al patólogo junto a la muestra de tejido para analizar

Tipo de muestra	<ul style="list-style-type: none"> • Biopsia intraoperatoria • Tejido tumoral final • Hipófisis normal • Otros
Sospecha diagnóstica	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome clínico endocrino • No funcionante
Antecedentes familiares	<ul style="list-style-type: none"> • Neoplasia endocrina múltiple, adenoma pituitario familiar aislado, síndrome de Carney, feocromocitoma/paraganglioma
Tamaño tumoral	<ul style="list-style-type: none"> • Máximo diámetro en milímetros
Tipo de intervención realizada	<ul style="list-style-type: none"> • Transesfenoidal, microscópica, transcraneal
Características radiológicas	<ul style="list-style-type: none"> • Invasión de senos cavernosos, esfenooidal o de <i>clivus</i> • Intensidad en T2
Grado de extirpación	<ul style="list-style-type: none"> • Completa, parcial, biopsia
Tratamiento previo	<ul style="list-style-type: none"> • Cirugía (reintervención) • Radioterapia (convencional, estereotáxica, radiocirugía) • Farmacológico: análogos de somatostatina 1.^a y 2.^a generación, agonistas dopaminérgicos, pegvisomant, ketoconazol

gonadotropinomas (la mayor parte expresan SF-1) o, con menor frecuencia, como corticotropinomas silentes^{34,35}. Dado que los tumores verdaderamente nulos y los corticotropinomas silentes pueden comportarse de forma más agresiva que los gonadotropinomas^{36,37}, tiene gran importancia su correcta identificación. Debido a la inmunonegatividad para las hormonas hipofisarias y para los FTH, el diagnóstico es de exclusión y la recomendación actual es denominarlos tumores inmunonegativos en lugar de tumores nulos.

Estudio anatomopatológico de los tumores hipofisarios neuroendocrinos

El estudio diagnóstico de enfermedad hipofisaria debe ser efectuado por un patólogo. Si es posible, según las características del centro, por un patólogo o neuropatólogo con contrastada experiencia en enfermedad hipofisaria. Se recomienda reservar parte del tejido tumoral para su criopreservación y almacenamiento en los biobancos, junto con muestras de sangre periférica para completar los estudios somáticos con estudios germinales. Se recomienda también la creación de colecciones de tumores neuroendocrinos en los respectivos biobancos que puedan interactuar en red.

Información clínica que debe conocer el patólogo antes del estudio

El diagnóstico anatomopatológico se realiza en un contexto clínico y, por ello, es indispensable que el patólogo reciba la información de contexto necesaria. En consonancia con el *European Pituitary Pathology Group*¹⁶, los autores recomiendan que el patólogo tenga acceso a la información recogida en la [tabla 2](#).

Condiciones de recogida y envío de la muestra

Se recomienda que el material biológico sea remitido en fresco y sin fijador de forma inmediata tras su extracción para evitar la isquemia del tejido^{3,4,38}. Idealmente se remitirá en una gasa humedecida en solución salina para evitar su disgregación en un recipiente lleno de solución. Debe remitirse al servicio de anatomía patológica todo el tejido obtenido y evitar al máximo la manipulación en el área quirúrgica. Antes de su fijación, el patólogo remitirá parte de la muestra al biobanco correspondiente para su criopreservación.

Análisis macroscópico y procesamiento del tejido

En el análisis macroscópico se debe describir el número de fragmentos y su volumen aproximado. El patólogo se responsabiliza de la selección de tejido que se destine a técnicas especiales o al biobanco, siempre haciendo prevalecer las necesidades para el diagnóstico. Es recomendable un control microscópico de la muestra antes de congelarla, algo que puede hacerse de forma rápida con una muestra citológica por aplastamiento de un pequeño fragmento³⁸.

Cuando procede hacer un diagnóstico intraoperatorio, para evitar la pérdida de tejido y la aparición de artefactos que se producen en las secciones por congelación, se recomienda una citología por extensión o aplastamiento de un pequeño fragmento^{3,4,39,40}.

Estudio microscópico

El tejido tumoral para el estudio diagnóstico se fijará en formalina neutra tamponada (entre 6 y 48 h). No se deben utilizar fijadores mercuriales o basados en ácido pícrico (Bouin)^{3,4,16,38,40}. La evaluación inicial se hace con tinción de hematoxilina-eosina, para confirmar que se trata de un TNEH^{2-4,16,34,38,39}. Se determinará el tipo tintorial, las caracte-

terísticas celulares (grado de pleomorfismo), arquitectura, grado de fibrosis, necrosis, signos de hemorragia o cualquier otro parámetro morfológico de interés. Se informará de la presencia de tejido hipofisario normal, si formase parte del material biológico remitido. Si existieran dudas de que el material biológico correspondiera a la glándula hipofisaria normal en lugar de al tumor, se hará una tinción para reticulina. Esta técnica es especialmente recomendable en el caso de la enfermedad de Cushing si no se ha identificado tumor en la MRI. Se cuantificará el número de mitosis en 10 campos ($40\times$)^{2,16,39}.

Estudio inmunohistoquímico

El estudio inmunohistoquímico permitirá caracterizar el tumor y determinar variables de interés pronóstico de respuesta al tratamiento farmacológico^{2,16,34,41,42}. Se debe tener en cuenta que no existen estudios comparativos respecto al rendimiento diagnóstico según los anticuerpos utilizados, sistema de visualización, cuantificación o puntos de corte que definan la positividad. Por tanto, cada laboratorio deberá definir y validar sus procedimientos. Aun así, los estudios de concordancia y validación entre la IHQ y el estudio molecular que se han publicado recientemente^{30,31,43} indican que las positividades en la IHQ inferiores al 5% deben ser interpretadas con cautela a la hora de tipificar un determinado subtipo tumoral. Afortunadamente, la determinación por IHQ o técnicas moleculares de los FTH permitirá una adecuada tipificación de estos casos dudosos.

Inmuntinción de las hormonas hipofisarias y de los factores de transcripción hipofisarios de las líneas celulares hipofisarias

Recientemente, el *European Pituitary Pathology Group*¹⁶ ha propuesto una estratificación por pasos de los estudios inmunohistoquímicos (tabla 3).

Sin embargo, en aquellos centros donde se puedan medir los FTH de forma rutinaria, se propone una secuencia diagnóstica diferente, que se recoge en la figura 1. Este esquema sería más eficiente en la identificación precisa de la mayor parte de los TNEH y supondría un importante ahorro de anticuerpos y de tiempo. Los tumores plurihormonales no se identificarán con tanta precisión con esta estrategia, pero suponen menos del 1% de todos los TNEH²⁵.

Cuantificación por inmunohistoquímica de citoqueratinas

La medición de la expresión de citoqueratinas de bajo peso molecular, en particular las 8 y 18, habitualmente identificadas con el anticuerpo CAM5.2 (CK8 y CK7), es útil para identificar de forma consistente algunas variantes de los subtipos de TNEH, en particular, los 2 subtipos principales de somatotropinomas. Un patrón perinuclear difuso de citoqueratinas es diagnóstico de somatotropinoma densamente granulado, mientras que un patrón en gota con un porcentaje de cuerpos fibrosos > 70% identifica al somatotropinoma escasamente granulado. Distinguir entre ambos e incluirlos en el informe del patólogo es relevante para el clínico, ya que los somatotropinomas densamente granulados presentan una mejor respuesta a los análogos de la somatostatina de primera generación⁴⁴. Un patrón de expresión citoplasmática abundante se asocia también al TNEH corti-

cotro. Sin embargo, la mayoría de los adenomas negativos para citoqueratinas corresponden a gonadotropos^{16,34,39} y, por tanto, no estaría indicada su medición en este subtipo.

Evaluación de la proliferación: índice MIB1-LI/Ki-67

Es importante estimar la proliferación celular mediante la cuantificación inmunohistoquímica del índice de tinción MIB1-LI/Ki-67, ya que este se ha considerado un posible factor pronóstico en los TNEH^{2,16,42} (tabla 3). La cuantificación con Ki-67 se realizará en 2 de las áreas de la preparación con mayor número de núcleos teñidos (*hot spots*), considerando entre 500 y 1.000 células¹⁶, y se expresará en porcentaje sobre el número total de células tumorales. A diferencia de otros tumores neuroendocrinos, en los TNEH no se ha establecido un punto de corte que prediga de forma muy precisa el comportamiento agresivo del tumor^{2,16}. Se acepta que un Ki-67 $\geq 3\%$ está presente en la mayoría de los tumores agresivos²⁸ y si excede el 10% debe considerarse la posibilidad de que se trate de una metástasis selar o de un carcinoma hipofisario^{45,46}.

Otros marcadores pronósticos: número de mitosis e intensidad de inmuntinción de p53

La cuantificación del número de mitosis en los TNEH no tiene la misma importancia que tiene en la gradación de los tumores neuroendocrinos del tracto gastrointestinal. El resultado se expresa por milímetro cuadrado, que equivale a 5 campos de gran aumento ($40\times$) y es relevante la presencia de 2 mitosis por cada 10 campos de gran aumento^{16,42}. La positividad de p53 en el tejido tumoral es indicativa de mutaciones o inactivación del gen supresor *TP53* y se considera marcador de comportamiento agresivo en muchos tumores sólidos⁴⁷. Sin embargo, su importancia pronóstica en los TNEH es limitada², por lo que su determinación solo se recomienda en aquellos tumores con un índice Ki-67 $\geq 3\%$, lo que ahorra costes y facilita una estrategia diagnóstica homogénea aplicable a todos los hospitales del país.

Otras determinaciones inmunohistoquímicas

En el caso de tumores nulos, puede ser de utilidad la inmuntinción de cromogranina A (CgA) y de sinaptofisina para certificar el origen neuroendocrino de la lesión y diferenciarla de otros tumores del área selar⁴⁸.

Aunque diversas publicaciones señalan que la expresión del *Pituitary Tumor Transforming Gene* ayudaría a predecir la agresividad de los TNEH, esto no se ha confirmado en series grandes¹³. Por tanto, se desaconseja su determinación. El estudio de la expresión de receptores de la somatostatina puede ayudar a predecir la respuesta de los somatotropinomas y los NFPA al tratamiento con análogos de somatostatina de primera y segunda generación⁴⁹⁻⁵¹. Además, recientes estudios han demostrado que la determinación de E-cadherina permite identificar con mayor precisión que la expresión de SSTR la respuesta a los análogos de somatostatina^{42,43,52}. Sin embargo, los algoritmos de tratamiento de la acromegalia aún no contemplan la determinación IHQ sistemática de SSTR o de E-cadherina en la práctica clínica diaria. Por lo tanto, su determinación queda relegada, por el momento, a la investigación o a casos puntuales debidamente justificados^{2,16}.

Tabla 3 Recomendaciones multinivel del estudio inmunohistoquímico de los tumores neuroendocrinos hipofisarios de acuerdo con las recomendaciones del *European Pituitary Pathology Group*¹⁶

NIVEL 1 Hormonas Citoqueratinas Marcadores de proliferación	PRL/GH/ TSH	ACTH	FSH/LH	LMWK ^a	MIB1/Ki-67
NIVEL 2 Factores de transcripción hipofisarios	PIT-1	T-PIT		SF-1	
NIVEL 3 Solo para casos seleccionados (ver texto principal)	CgA ^b	SSTR, E-cadherina		P53	

ACTH: hormona corticotropa; FSH: hormona foliculoestimulante; GH: hormona del crecimiento; LH: hormona luteinizante; LMWK: citoqueratinas de bajo peso molecular; MIB1/Ki-67: índice de proliferación de MIB1; PIT1: factor de transcripción 1 específico de la hipófisis; PRL: prolactina; SF-1: el factor esteroideogénico-1; SSTR: receptores de somatostatina; TPIT: el factor de transcripción t-box; TSH: hormona estimulante de la tiroides.

^a Estudio indicado en tumores somatotropos y corticotropos.

^b La determinación de cromogranina (CgA) es obligatoria en todos los tumores inmunonegativos o escasamente positivos.

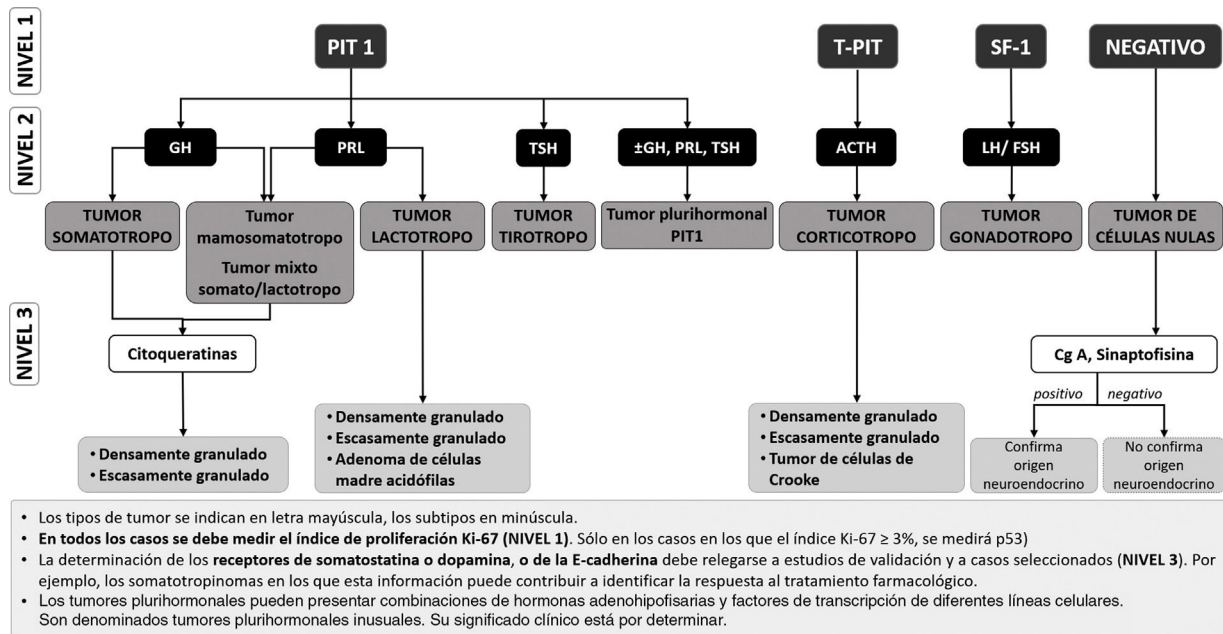


Figura 1 Propuesta de algoritmo diagnóstico de los subtipos de TNEH sobre la base de la determinación en un primer escalón de los FTH hipofisarios.

PIT-1: factor de transcripción 1 específico de la hipófisis; T-PIT: el factor de transcripción t-box; SF-1: el factor esteroideogénico-1. ACTH: hormona corticotropa; GH: hormona del crecimiento; FSH: hormona foliculoestimulante; LH: hormona luteinizante; PRL: prolactina; TSH: hormona estimulante de la tiroides. Cg-A: cromogranina A.

La determinación de metilguanina-metiltransferasa (MGMT), la enzima reparadora del ADN y que atenúa el efecto de la temozolamida en el tratamiento de los carcinomas y TNEH agresivos, se ha propuesto como un marcador de respuesta negativa a este fármaco. Datos recientes no han confirmado que la expresión de MGMT, su IHQ, la metilación del promotor de MGMT, los valores de índice proliferativo con Ki-67 o p53 sean predictores de la repuesta a temozolamida⁵³. Además, no hay un consenso establecido con relación a cómo evaluar MGMT. En consecuencia, la determinación rutinaria de MGMT no está hoy justificada como predictor de respuesta.

Como alternativas al estudio de MGMT se ha propuesto la evaluación de proteínas reparadoras del ADN, en particular de MSH6, cuya expresión se ha asociado a respuesta a temozolamida⁵⁴. La pérdida de inmunexpresión nuclear de MSH6 y también de MSH2 se ha asociado a pérdida de eficacia al tratamiento con temozolamida. Sin embargo, los datos sobre su utilidad son muy limitados en la actualidad.

El informe anatomopatológico

Al igual que en otras áreas de la patología, se recomienda la utilización de modelos de informes

Tabla 4 Propuesta de informe de análisis patológico para TNEH

Tabla 4. Propuesta de informe de análisis patológico para TNEH			
Información clínica y preoperatoria			
Adenoma funcionante <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No	Tratamiento preoperatorio <input type="checkbox"/> Cirugía <input type="checkbox"/> Agonistas dopaminérgicos <input type="checkbox"/> Análogos de somatostatina		<input type="checkbox"/> Pegvisomant <input type="checkbox"/> Ketoconazol <input type="checkbox"/> Antitiroideos
		<input type="checkbox"/> Radioterapia	Recaída <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No
Procedimiento quirúrgico realizado		Dimensión del diámetro máximo en milímetros	
Hay RM preoperatoria disponible <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No			
Invasión radiológica:	Seno cavernoso <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Desconocido	Seno esfenoidal <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Desconocido	Otro hueso <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Desconocido
Examen macroscópico			
Tamaño del espécimen			
N.º de fragmentos fijados en _____ (indicar fijador)			
N.º de fragmentos criopreservados			
Examen histológico			
Hematoxilina eosina	Tipo celular <input type="checkbox"/> Acidófilo <input type="checkbox"/> Basófilo <input type="checkbox"/> Cromóforo	Patrón <input type="checkbox"/> Difuso <input type="checkbox"/> Trabecular <input type="checkbox"/> Pseudopapilar <input type="checkbox"/> Otro _____	Otras características <input type="checkbox"/> Cambio oncocítico <input type="checkbox"/> Calcificación <input type="checkbox"/> Inflamación <input type="checkbox"/> Otras:
Tinción de reticulina Contiene glándula hipofisaria no tumoral: <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No		Células de Crooke <input type="checkbox"/> En adenohipófisis	<input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> En adenoma
Recuento de células en mitosis (n.º por milímetro cuadrado. Objetivo 40x)			
Infiltración histológica (si procede)		Duramadre <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No
		Hueso <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No
		Mucosa respiratoria <input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí / <input type="checkbox"/> No
Inmunohistoquímica (panel de anticuerpos, anotar la referencia de los clones)			
Hormonas	GH _____ % PRL _____ %	TSH _____ % ACTH _____ %	LH _____ % FSH _____ %
Patrón de citoqueratinas	<input type="checkbox"/> Citoplásmico difuso <input type="checkbox"/> Patrón en gota	<input type="checkbox"/> Perinuclear <input type="checkbox"/> Membrana	<input type="checkbox"/> Negativo
Marcadores de proliferación	Índice MIB-1/Ki-67 % de células positivas		
Factores de transcripción hipofisarios (incluir porcentaje si positivo)	PIT-1 <input type="checkbox"/> positivo _____ % <input type="checkbox"/> negativo	T-PIT <input type="checkbox"/> positivo _____ % <input type="checkbox"/> negativo	SF-1 <input type="checkbox"/> positivo _____ % <input type="checkbox"/> negativo
Cromogranina A (CgA)	<input type="checkbox"/> positivo / <input type="checkbox"/> negativo		
p53 (si índice MIB1/Ki-67 \geq 3%)*	%		
Otras técnicas			
Diagnóstico final (OMS 2017)			
Clasificación morfológica con/sin signos de proliferación (recuento de mitosis e índice Ki-67) ²			
Diagnóstico integrado con grados 1a, 1b, 2a, 2b, 3 (Tabla 5) ^{13, 14}			

* Opcional y condicionado al índice de proliferación Ki-67

* Opcional y condicionado al índice de proliferación Ki-67

Tabla 5 Clasificación clínico-patológica de los tumores neuroendocrinos hipofisarios según Trouillas et al., 2013^{9,14}

La clasificación se basa en 3 características:

1. *Diámetro del tumor en micro (<10 mm), macro (≥ 10 mm) o gigante (≥40 mm) según estudio de RMN*
2. *Tipo de tumor según estudio inmunohistoquímico: GH, PRL, ACTH, FSH/LH y TSH*
3. *Grado tumoral basado en los siguientes criterios:*

Invasión: definida como signos histológicos o radiológicos (RMN) de invasión del seno cavernoso o esfenoidal

Proliferación: considerada según al menos 2 de los 3 criterios:

- *Ki-67: > 1% (fijador Bouin-Hollande) o ≥3% (fijador formalina)*
- *Mitosis: n > 2/10 campos de gran aumento*
- *P53: positivo (>10 núcleos fuertemente positivos/10 campos de alta potencia)*

Grados de comportamiento tumoral establecidos según las características previas:

Grado 1a	Tumor no invasivo
Grado 1b	Tumor no invasivo y proliferativo
Grado 2a	Tumor invasivo
Grado 2b	Tumor invasivo y proliferativo
Grado 3	Tumor metastásico (metástasis cerebrospinales o sistémicas)

Campo de gran aumento: 0,30 mm², aumento de 400×.

ACTH: hormona corticotropa; FSH: hormona foliculoestimulante; GH: hormona del crecimiento; LH: hormona luteinizante; PRL: prolactina; RMN: resonancia magnética; TSH: hormona estimulante de la tiroides.

anatomopatológicos estandarizados^{16,2,4,13,16,34,38,39,55,56}. El informe debe contener: datos clínicos, datos radiológicos, datos de la intervención quirúrgica y datos de patología: microscopia e IHQ de las hormonas adenohipofisarias y, si está disponible, de los FTH (tablas 4 y 5).

Aportaciones futuras de la biología molecular a la tipificación y pronóstico de los tumores hipofisarios neuroendocrinos

En la descripción del estudio IHQ se han mencionado las limitaciones actuales de determinados marcadores, como el PTTG, para predecir agresividad o de los receptores de la somatostatina (clásicos SSTR1-5, y truncado sst5TMD4) o E-cadherina para predecir la respuesta de los somatotropinomas y NFPA al tratamiento con análogos de somatostatina. Todavía no hay evidencia consistente que los incluya en los algoritmos de tratamiento de la acromegalia para la elección del primer escalón de tratamiento médico. Así pues, por el momento, su uso queda restringido a investigación o a casos puntuales^{2,16}.

Entre otros marcadores interesantes, los niveles de proteína RKIP se correlacionan de manera significativa con la respuesta de los niveles séricos de GH e IGF-1 y, como consecuencia, los bajos niveles de expresión de RKIP y la falta de inhibición de RAF-cinasa se asocian con una peor respuesta a análogos de la somatostatina en somatotropinomas⁵⁷. La expresión del gen *AIP* es relevante en el diagnóstico de adenomas pituitarios familiares aislados y también en la respuesta terapéutica de los adenomas somatotrópicos⁵⁸.

En los últimos años se han identificado otros marcadores de proliferación celular, apoptosis, angiogénicos, oncogenes, genes supresores de tumores, mediadores del ciclo celular, microARN y ARN largos no codificantes, que participan en la tumorigénesis, migración, proliferación y capacidad invasiva de los adenomas hipofisarios⁵⁹.

Sin embargo, todavía no hay marcadores morfológicos confiables que predigan la recurrencia de un TNEH.

Investigaciones recientes han permitido obtener nueva información sobre la génesis y el comportamiento biológico de estos tumores. Entre las moléculas exploradas se incluye la familia TACSTD (*EpCAM*, *TROP2*), neuropilina (*NRP-1*), senescencia inducida por el oncogén OIS, fascinas (*FSCN1*), genes asociados a la invasión (*CLDN7*, *CNTNAP2*, *ITGA6*, *JAM3*, *PTPRC* y *CTNNA1*) *EZH2* y genes *ENC1* y *endocan*⁶⁰. Las técnicas moleculares, la bioinformática y las nuevas opciones farmacológicas son herramientas útiles para ampliar la comprensión de la naturaleza compleja de la tumorigénesis pituitaria^{51,59,61}. Conforme se vaya constatando su utilidad clínica deberán ser incluidos en el informe patológico.

Conclusiones

El conocimiento de los TNEH se ha incrementado de forma exponencial durante los últimos años gracias a la mayor especificidad de los anticuerpos frente a las hormonas adenohipofisarias, la progresiva incorporación de la determinación de los FTH y los nuevos avances en biología molecular. En conjunto, estos avances permiten tipificar en la actualidad de forma correcta los diferentes subtipos de TNEH en más del 95% de los casos, lo que favorece su tratamiento y seguimiento. Además, la posibilidad de medir los factores de transcripción permite una estrategia de estudio secuencial patológico diferente a lo realizado hasta ahora. Si la estrategia propuesta en el presente artículo demuestra su eficacia, significará un importante ahorro en tiempo y coste de reactivos. Es necesario, pues, actualizar el informe que deben emitir los servicios de anatomía patológica para ayudar al clínico en el tratamiento óptimo de los TNEH.

Financiación

El artículo fue financiado por la Fundación de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición gracias un grant de Pfizer. Este documento ha recibido apoyo económico de

Pfizer mediante una beca sin restricciones. Pfizer no ha participado en la redacción ni en su contenido.

Conflicto de intereses

AP ha participado en ensayos clínicos relacionados con la enfermedad hipofisaria promovidos por Pfizer, Novartis e Ipsen, y en la difusión de conocimientos en simposios y reuniones patrocinados por Pfizer, Novartis e Ipsen. GM ha recibido honorarios como conferenciante de Novo Nordisk y Lilly y soporte para asistencia a congresos de Pfizer y Menarini. MPD ha recibido becas de apoyo a la investigación de Pfizer y Novartis, ha percibido honorarios como conferenciante de Ipsen y como asesor para Recordati. IAL, MAJ, OT y RML no tienen conflictos de intereses que declarar.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración de la Dra. Blanca Piedrafita, de Medical Statistics Consulting S.L., en la preparación y edición del manuscrito. Todos los autores contribuyeron en la redacción, realizaron revisión crítica de su contenido y aprobaron la versión final.

Bibliografía

- Asa SL, Casar-Borota O, Chanson P, Delgrange E, Earls P, Ezzat S, et al. From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): An International Pituitary Pathology Club fifth proposal. *Endocr Relat Cancer*. 2017;24(4):C5–8. DOI: 10.1530/erc-17-0004.
- Lloyd R, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J. WHO Classification of tumours of endocrine organs. IARC. Ginebra: World Health Organization; 2017. p. 355.
- Asa SL. Tumors of the pituitary gland. En: Rosai J, editor. Atlas of tumor pathology (AFIP) third series. 4th edition ed. Washington: D.C. Armed Forces Institute of Pathology;; 1998.
- Asa SL. Practical pituitary pathology: What does the pathologist need to know? *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(8):1231–40. DOI: 10.1043/1543-2165(2008)132[1231:pppwdt]2.0.co;2.
- Saeger W, Ludecke DK, Buchfelder M, Fahlbusch R, Quabbe HJ, Petersenn S. Pathohistological classification of pituitary tumors: 10 years of experience with the German Pituitary Tumor Registry. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(2):203–16. DOI: 10.1530/eje.1.02326.
- Tjornstrand A, Gunnarsson K, Evert M, Holmberg E, Ragnarsson O, Rosen T, et al. The incidence rate of pituitary adenomas in western Sweden for the period 2001–2011. *Eur J Endocrinol*. 2014;171(4):519–26. DOI: 10.1530/eje-14-0144.
- Iglesias P, Arcano K, Trivino V, Garcia-Sancho P, Diez JJ, Villabona C, et al. Prevalence clinical features, and natural history of incidental clinically non-functioning pituitary adenomas. *Horm Metab Res*. 2017;49(9):654–9. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0043-115645>.
- Ho KK, Fleseriu M, Wass J, van der Lely A, Barkan A, Giustina A, et al. A tale of pituitary adenomas: To NET or not to NET: Pituitary Society position statement. *Pituitary*. 2019;22(6):569–73. <http://dx.doi.org/10.1007/s11102-019-00988-2>.
- Asa SL, Asioli S, Bozkurt S, Casar-Borota O, Chinezu L, Comunoglu N, et al. Pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs): Nomenclature evolution, not clinical revolution. *Pituitary*. 2020;23(3):322–5. <http://dx.doi.org/10.1007/s11102-019-01015-0>.
- Nishioka H, Inoshita N, Mete O, Asa SL, Hayashi K, Takeshita A, et al. The complementary role of transcription factors in the accurate diagnosis of clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *Endocr Pathol*. 2015;26(4):349–55. <http://dx.doi.org/10.1007/s12022-015-9398-z>.
- Drummond J, Roncaroli F, Grossman AB, Korbonits M. Clinical and pathological aspects of silent pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(7):2473–89. DOI: 10.1210/jc.2018-00688.
- Mete O, Gómez-Hernández K, Kucharczyk W, Ridout R, Zadeh G, Gentili F, et al. Silent subtype 3 pituitary adenomas are not always silent and represent poorly differentiated monomorphous plurihormonal Pit-1 lineage adenomas. *Mod Pathol*. 2016;29(2):131–42. <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2015.151>.
- Trouillas J, Roy P, Sturm N, Dantony E, Cortet-Rudelli C, Vienne G, et al. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: A multicentric case-control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathol*. 2013;126(1):123–35. DOI: 10.1007/s00401-013-1084-y.
- Asioli S, Righi A, Iommi M, Baldovini C, Ambrosi F, Guaraldi F, et al. Validation of a clinicopathological score for the prediction of post-surgical evolution of pituitary adenoma: Retrospective analysis on 566 patients from a tertiary care centre. *Eur J Endocrinol*. 2019;180(2):127–34. DOI: 10.1530/eje-18-0749.
- Trouillas J, Jaffrain-Rea ML, Vasiljevic A, Raverot G, Roncaroli F, Villa C. How to classify the pituitary neuroendocrine tumors (PitNET) in 2020. *Cancers (Basel)*. 2020;12(2.). DOI: 10.3390/cancers12020514.
- Villa C, Vasiljevic A, Jaffrain-Rea ML, Ansorge O, Asioli S, Barresi V, et al. A standardised diagnostic approach to pituitary neuroendocrine tumours (PitNETs): An European Pituitary Pathology Group (EPPG) proposal. *Virchows Arch*. 2019;475(6):687–92. <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-019-02655-0>.
- Kovacs K, Rotondo F, Horvath E, Syro LV, Di Ieva A, Cusimano MD, et al. Letter to the editor. *Endocr Pathol*. 2015;26(1):93–4. <http://dx.doi.org/10.1007/s12022-014-9342-7>.
- Agustsson TT, Baldvinsdottir T, Jonasson JG, Olafsdottir E, Steinthorsdottir V, Sigurdsson G, et al. The epidemiology of pituitary adenomas in Iceland, 1955–2012: A nationwide population-based study. *Eur J Endocrinol*. 2015;173(5):655–64. DOI: 10.1530/eje-15-0189.
- Ntali G, Capatina C, Grossman A, Karavitaki N. Clinical review: Functioning gonadotroph adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):4423–33. DOI: 10.1210/jc.2014-2362.
- Korbonits M, Carlsen E. Recent clinical and pathophysiological advances in non-functioning pituitary adenomas. *Horm Res*. 2009;71 Suppl 2:123–30. DOI: 10.1159/000192449.
- Mayson SE, Snyder PJ. Silent (clinically nonfunctioning) pituitary adenomas. *J Neurooncol*. 2014;117(3):429–36. <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-014-1425-2>.
- Daems T, Verhelst J, Michotte A, Abrams P, de Ridder D, Abs R. Modification of hormonal secretion in clinically silent pituitary adenomas. *Pituitary*. 2009;12(1):80–6. <http://dx.doi.org/10.1007/s11102-008-0085-7>.
- Righi A, Faustini-Fustini M, Morandi L, Monti V, Asioli S, Mazzatenta D, et al. The changing faces of corticotroph cell adenomas: The role of prohormone convertase 1/3. *Endocrine*. 2017;56(2):286–97. <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-016-1028-0>.
- Salgado LR, Machado MC, Cukiert A, Liberman B, Kanamura CT, Alves VA. Cushing's disease arising from a clinically nonfunctioning pituitary adenoma. *Endocr Pathol*. 2006;17(2):191–9. DOI: 10.1385/ep:17:2:191.
- Mete O, Kefeli M, Caliskan S, Asa SL. GATA3 immunoreactivity expands the transcription factor profile of pituitary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*. 2019;32(4):484–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-018-0167-7>.

26. Torregrosa-Quesada ME, García-Martínez A, Silva-Ortega S, Martínez-López S, Camara R, Fajardo C, et al. How valuable is the RT-qPCR of pituitary-specific transcription factors for identifying pituitary neuroendocrine tumor subtypes according to the new WHO 2017 criteria? *Cancers (Basel)*. 2019;11(12.). DOI: 10.3390/cancers11121990.
27. Erickson D, Scheithauer B, Atkinson J, Horvath E, Kovacs K, Lloyd RV, et al. Silent subtype 3 pituitary adenoma: A clinicopathologic analysis of the Mayo Clinic experience. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;71(1):92–9. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2008.03514.x.
28. Raverot G, Burman P, McCormack A, Heaney A, Petersenn S, Popovic V, et al. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the management of aggressive pituitary tumours and carcinomas. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(1):G1–24. DOI: 10.1530/EJE-17-0796.
29. Nishioka H, Kontogeorgos G, Lloyd R, Lopes MB, Mete O, Nose V. Null cell adenoma. WHO Classification of tumours of endocrine organs. Ginebra: World Health Organization;; 2017. p. 37–8.
30. Sánchez-Tejada L, Sánchez-Ortiga R, Lamas C, Cámara R, Riesgo P, Fajardo C, et al. Contribution of molecular analysis to the typification of the non-functioning pituitary adenomas. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180039. DOI: 10.1371/journal.pone.0180039.
31. García-Martínez A, Sottile J, Fajardo C, Riesgo P, Camara R, Simal JA, et al. Is it time to consider the expression of specific-pituitary hormone genes when typifying pituitary tumours? *PLoS One*. 2018;13(7):e0198877. DOI: 10.1371/journal.pone.0198877.
32. Kontogeorgos G, Asa SL, Kovacs K, Smyth HS, Singer W. Production of alpha-subunit of glycoprotein hormones by pituitary somatotroph adenomas in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1993;129(6):565–72. DOI: 10.1530/acta.0.1290565.
33. Kontogeorgos G, Thodou E. The gonadotroph origin of null cell adenomas. *Hormones (Athens)*. 2016;15(2):243–7. DOI: 10.14310/horm.2002.1652.
34. Mete O, Cintosun A, Pressman I, Asa SL. Epidemiology and biomarker profile of pituitary adenohypophysial tumors. *Mod Pathol*. 2018;31(6):900–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-018-0016-8>.
35. Nishioka H, Inoshita N. New WHO classification of pituitary adenomas (4th edition): Assessment of pituitary transcription factors and the prognostic histological factors. *Brain Tumor Pathol*. 2018;35(2):57–61. <http://dx.doi.org/10.1007/s10014-017-0307-7>.
36. Balogun JA, Monsalves E, Juraschka K, Parvez K, Kucharczyk W, Mete O, et al. Null cell adenomas of the pituitary gland: An institutional review of their clinical imaging and behavioral characteristics. *Endocr Pathol*. 2015;26(1):63–70. <http://dx.doi.org/10.1007/s12022-014-9347-2>.
37. Almeida JP, Stephens CC, Eschbacher JM, Felicella MM, Yuen KCJ, White WL, et al. Clinical, pathologic, and imaging characteristics of pituitary null cell adenomas as defined according to the 2017 World Health Organization criteria: A case series from two pituitary centers. *Pituitary*. 2019;22(5):514–9. <http://dx.doi.org/10.1007/s11102-019-00981-9>.
38. Toldos-González Ó, Hernández-Lain A, Pérez-Barrios A. Patología de la hipófisis. Libro blanco de la anatomía patológica en España [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP-IAP); 2017. Disponible en: <https://www.seap.es/libros-blancos>.
39. Kleinschmidt-DeMasters BK, Lopes MB, Prayson RA. An algorithmic approach to sellar region masses. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(3):356–72. DOI: 10.5858/arpa.2014-0020-OA.
40. Powell SZ. Intraoperative consultation cytologic preparations, and frozen section in the central nervous system. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(12):1635–52. DOI: 10.1043/1543-2165(2005)129[1635:iccpaf]2.0.co;2.
41. McDonald WC, Banerji N, McDonald KN, Ho B, Macias V, Kajdacsy-Balla A. Steroidogenic factor 1 Pit-1, and adrenocorticotrophic hormone: A rational starting place for the immunohistochemical characterization of pituitary adenoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(1):104–12. DOI: 10.5858/arpa.2016-0082-OA.
42. Manojlovic-Gacic E, Bollerslev J, Casar-Borota O. Invited review: Pathology of pituitary neuroendocrine tumours: Present status, modern diagnostic approach, controversies and future perspectives from a neuropathological and clinical standpoint. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2019. DOI: 10.1111/nan.12568.
43. Puig-Domingo M, Gil J, Sampedro Núñez M, Jorda M, Webb SM, Serra G, et al. Molecular profiling for acromegaly treatment: A validation study. *Endocr Relat Cancer*. 2020. DOI: 10.1530/erc-18-0565.
44. Bhayana S, Booth GL, Asa SL, Kovacs K, Ezzat S. The implication of somatotroph adenoma phenotype to somatostatin analog responsiveness in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(11):6290–5. DOI: 10.1210/jc.2005-0998.
45. Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ, et al. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: An analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery*. 1996;38(1):99–106. <http://dx.doi.org/10.1097/00006123-199601000-00024>, discussion -7.
46. Trouillas J. In search of a prognostic classification of endocrine pituitary tumors. *Endocr Pathol*. 2014;25(2):124–32. <http://dx.doi.org/10.1007/s12022-014-9322-y>.
47. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: Origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001008. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a001008>.
48. Lopes MBS. The 2017 World Health Organization classification of tumors of the pituitary gland: A summary. *Acta Neuropathol*. 2017;134(4):521–35. <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-017-1769-8>.
49. Trouillas J, Vasiljevic A, Lapoirie M, Chinez L, Jouanneau E, Raverot G. Pathological markers of somatotroph pituitary neuroendocrine tumors predicting the response to medical treatment. *Minerva Endocrinol*. 2019;44(2):129–36. DOI: 10.23736/s0391-1977.18.02933-4.
50. Venegas-Moreno E, Vazquez-Borrego MC, Dios E, Gros-Herguido N, Flores-Martínez A, Rivero-Cortés E, et al. Association between dopamine and somatostatin receptor expression and pharmacological response to somatostatin analogues in acromegaly. *J Cell Mol Med*. 2018;22(3):1640–9. DOI: 10.1111/jcmm.13440.
51. Vázquez-Borrego MC, Gupta V, Ibanez-Costa A, Gahete MD, Venegas-Moreno E, Toledano-Delgado A, et al. A somatostatin receptor subtype-3 (SST3) peptide agonist shows antitumor effects in experimental models of nonfunctioning pituitary tumors. *Clin Cancer Res*. 2020;26(4):957–69. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-19-2154.
52. Venegas-Moreno E, Flores-Martínez A, Dios E, Vazquez-Borrego MC, Ibanez-Costa A, Madrazo-Atutxa A, et al. E-cadherin expression is associated with somatostatin analogue response in acromegaly. *J Cell Mol Med*. 2019;23(5):3088–96. DOI: 10.1111/jcmm.13851.
53. Elbelt U, Schlaffer SM, Buchfelder M, Knappe UJ, Vila G, Micko A, et al. Efficacy of temozolomide therapy in patients with aggressive pituitary adenomas and carcinomas: A German survey. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(3.). DOI: 10.1210/clinem/dgz211.
54. Hirohata T, Asano K, Ogawa Y, Takano S, Amano K, Isozaki O, et al. DNA mismatch repair protein (MSH6) correlated with the responses of atypical pituitary adenomas and pituitary carcinomas to temozolomide: The national cooperative study by the Japan Society for Hypothalamic and Pituitary Tumors. *J Clin*

- Endocrinol Metab. 2013;98(3):1130–6. DOI: 10.1210/jc.2012-2924.
55. Nose V, Ezzat S, Horvath E, Kovacs K, Laws ER, Lloyd R, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary pituitary tumors. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(5):640–6, <http://dx.doi.org/10.1043/2010-0470-sar1.1>.
56. Casanueva FF, Barkan AL, Buchfelder M, Klibanski A, Laws ER, Loeffler JS, et al. Criteria for the definition of Pituitary Tumor Centers of Excellence (PTCOE): A Pituitary Society statement. *Pituitary.* 2017;20(5):489–98, <http://dx.doi.org/10.1007/s11102-017-0838-2>.
57. Fougner SL, Bollerslev J, Latif F, Hald JK, Lund T, Ramm-Petersen J, et al. Low levels of raf kinase inhibitory protein in growth hormone-secreting pituitary adenomas correlate with poor response to octreotide treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(4):1211–6. DOI: 10.1210/jc.2007-2272.
58. Korbonits M, Kumar AV. AIP familial isolated pituitary adenomas. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editores. *GeneReviews*(R). Seattle (WA): University of Washington, Seattle University of Washington, Seattle.; 1993.
59. Fuentes-Fayos AC, García-Martínez A, Herrera-Martínez AD, Jiménez-Vacas JM, Vázquez-Borrego MC, Castaño JP, et al. Molecular determinants of the response to medical treatment of growth hormone secreting pituitary neuroendocrine tumors. *Minerva Endocrinol.* 2019;44(2):109–28. DOI: 10.23736/s0391-1977.19.02970-5.
60. Sav A, Rotondo F, Syro LV, Altinoz MA, Kovacs K. Selective molecular biomarkers to predict biologic behavior in pituitary tumors. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2017;12(3):177–85, <http://dx.doi.org/10.1080/17446651.2017.1312341>.
61. Vázquez-Borrego MC, Fuentes-Fayos AC, Venegas-Moreno E, Rivero-Cortés E, Dios E, Moreno-Moreno P, et al. Splicing machinery is dysregulated in pituitary neuroendocrine tumors and is associated with aggressiveness features. *Cancers (Basel).* 2019;11(10.). DOI: 10.3390/cancers11101439.