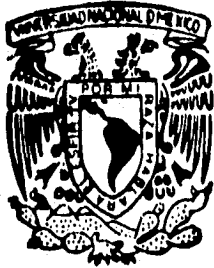


00361

19
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Implementación de la técnica de inmunoperoxidasa para la caracterización de la actividad secretora de los diferentes tipos de células adenohipofisarias. Aplicación en la clasificación de los adenomas hipofisarios

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A :

ALMA ORTIZ PLATA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. FERNANDA TEIXEIRA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Esta tesis se elaboró en el Departamento de Neuropatología Experimental del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suarez" de la Secretaría de Salud.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Fernanda Teixeira, por su confianza, su apoyo y su guía. Por brindarme siempre su amistad.

Al Dr Pedro Penagos por su interés y entusiasmo en la realización de este trabajo.

A mis compañeros del Departamento de Neuropatología Experimental, Viktor, Concepción, Georgina, Luz del Carmen, por su gran ayuda y apoyo.

A la Ing. en Computación Verónica Moreno Alvarez del laboratorio de Neurocomputación, a la Técnico en Dibujo Ma. Eugenia Guerrero Carrasco y al Diseñador Gráfico Enrique López Labastida de Diseño Gráfico.

A mis padres con todo mi respeto y agradecimiento, por el amor y el apoyo que me han dado durante toda mi vida.

A mis hermanos Lulú y Conrado por la compañía, amor y alegría que siempre he encontrado en ellos y por su valiosa ayuda en la elaboración de los esquemas de esta tesis.

A mi esposo Raúl por su amor y su apoyo. Por animarme a seguir adelante.

Por ti Cecilia, hija, por ser la alegría de mi vida.

¡Gracias Señor!

Agradezco al Ing. Manuel Antonio Garza Juárez, Subdirector General de Administración y a la Lic. Adriana Muñoz Tapia, Jefe de la División de Administración y Desarrollo de Personal del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suarez", por el apoyo económico otorgado para la impresión de esta tesis.

INDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
1. La glándula hipófisis	
a. Embriología	4
b. Riego e inervación.....	8
c. Histología.....	11
d. Fisiología.....	17
e. Control de la función adenohipofisiaria.....	20
f. Patología de la adenohipófisis.....	23
g. Tipos de adenomas.....	25
h. Comportamiento biológico de los adenomas hipofisarios..	28
2. Introducción a la técnica de inmunoperoxidasa.....	29
III. JUSTIFICACION.....	32
IV. OBJETIVOS.....	32
V. METODOLOGIA.....	33
VI. RESULTADOS.....	35
1. Implementación de la técnica.....	35
2. Caracterización y clasificación de los tipos celulares.....	35
VII. DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	63
VIII. GRAFICAS Y TABLAS.....	67
IX. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	80

I RESUMEN

Los adenomas son los tumores que más afectan a la glándula hipofisis. Se clasifican en 14 tipos diferentes de acuerdo a su actividad secretora detectada con inmunohistoquímica y a sus características ultraestructurales.

Este trabajo se desarrolló con la finalidad de implementar la técnica de inmunoperoxidasa en los adenomas hipofisarios, para caracterizar los tipos celulares y clasificar a los adenomas. Correlacionar: a) El cuadro clínico y el perfil hormonal de los pacientes, con la reacción a la inmunoperoxidasa y su ultraestructura y b) la actividad secretora de los adenomas, su aspecto histológico y ultraestructural, con su comportamiento biológico, especialmente su potencial invasor. Las biopsias de cada paciente fueron divididas en dos partes, la primera fué procesada para microscopía de luz en cuyas secciones se realizaron las técnicas de hematoxilina-eosina, técnica de Wilder para fibras reticulares, ácido periódico de Schiff e inmunoperoxidasa usando anticuerpos contra las seis diferentes hormonas hipofisarias. La segunda fué procesada para microscopia electrónica: secciones de un micrómetro de espesor se tiñeron con azul de toluidina y se observaron en un microscopio de luz y secciones finas fueron contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo y observadas en un microscopio electrónico de transmisión Carl Zeiss EM 10 A. En total se analizaron 122 casos de adenomas hipofisarios, el 18% de ellos pertenecieron a los grados I y II de acuerdo con la clasificación de Hardy, el 27.9% al grado III y el 54.1% al grado IV. Afectaron a una población de adultos jóvenes con representación similar de ambos sexos: 53.3% de hombres y 46.7% de mujeres. Histológicamente todos los tumores con excepción de dos, mostraron gran densidad celular, discreta anisonucleosis, núcleos densos sin figuras de mitosis y sin áreas de necrosis. Los dos casos mencionados, ambos de grado IV, presentaron anisonucleosis moderada, con contornos nucleares irregulares, presencia de pseudoinclusiones, algunas células bi o multinucleadas y algunas figuras de mitosis. No se encontraron áreas de necrosis. Los prolactinomas fueron el tipo tumoral más abundante (45.1%), seguido por los negativos (21.3%), los mixtos y plurihormonales (16.34%), los de hormona de crecimiento (4.1%), los de hormona foliculo estimulante (9%), los de hormona luteinizante (1.6%), los corticotrofos (1.6%) y los de hormona estimulante de la tiroides (0.82%). De los prolactinomas, el 38.1% fue tratado con bromocriptina, que redujo el tamaño del tumor, revirtió los síntomas, provocó fibrosis intersticial y reducción del aparato secreto-excretor de las células tumorales.

Se concluyó que no hay relación entre las características histológicas de los adenomas y la actividad secretora, con el comportamiento biológico de este tipo de neoplasia. Los adenomas parecen tener, como evolución natural, un potencial invasor de estructuras adyacentes, que no infiltra el tejido nervioso y no desarrolla metástasis.

II. INTRODUCCION

1. La glándula hipófisis

Las diversas actividades del cuerpo están controladas e integradas por dos sistemas principales: el nervioso y el endócrino. En el hombre, como en todos los mamíferos, el sistema endócrino está compuesto por diferentes glándulas especializadas localizadas en distintas partes del cuerpo, las cuales se originan como evaginaciones tubulares o yemas sólidas, que parten de epitelios de revestimiento, pero que en fases más tardías de su desarrollo pierden su conexión con la superficie.

Las glándulas endócrinas se caracterizan por carecer de conductos y liberar sus secreciones u hormonas directamente al torrente circulatorio (de ahí que se llamen endócrinas). Tienen por tanto riego sanguíneo abundante, relacionándose con vasos que forman redes capilares que satisfacen sus requerimientos metabólicos y transportan sus secreciones a partes distantes del cuerpo, donde actúan sobre órganos blanco para ejercer efectos específicos (Fawcett, 1986).

Una de las glándulas endócrinas principales, es la hipófisis o glándula pituitaria, la cual se encuentra situada en la base del cerebro, alojada en una depresión profunda del hueso esfenoides, la silla turca. Un pliegue circular de dura madre, llamado el diafragma de la silla, forma la bóveda de ésta fosa y cubre a la glándula. A su vez el piso de la fosa hipofisiaria forma parte de la bóveda del seno esfenoidal. La barrera entre la silla turca y la cavidad intracraneal suele ser incompleta, ya que el diafragma de la silla está atravesado por una pequeña abertura central de 5 mm o más de diámetro, a través de la cual pasa el tallo hipofisiario y separa la superficie de la parte anterior de la glándula del quiasma óptico. Una porción de la pia-aracnoides puede pasar a través de ésta abertura y rellena entonces el espacio estrecho situado entre el diafragma y la cápsula conjuntiva de la glándula. En el resto de su superficie, la densa cápsula conjuntiva está separada del periostio del hueso esfenoides por una capa más laxa de tejido conjuntivo que contiene muchas venas. Esta capa parece ser distinta de la pia-aracnoides (fig. 1).

La hipófisis está limitada a cada lado por el seno cavernoso y por las estructuras que contiene. Inferiormente está separada del piso de la fosa, por un seno venoso largo parcialmente vacuolado el cual se comunica libremente con el seno circular. Las meninges se fusionan con la cápsula de la glándula y no pueden ser identificadas como capas separadas de la fosa. Sin embargo el espacio subaracnoideo frecuentemente se extiende a distancias variables dentro de la silla, de forma particular en la parte anterior.

La relación de la hipófisis con las estructuras vecinas tiene importancia clínica. Aunque la hipófisis está bien protegida por el hueso de la silla, las lesiones que se originan en la vecindad pueden invadirla y destruirla (Netter y col. 1974).

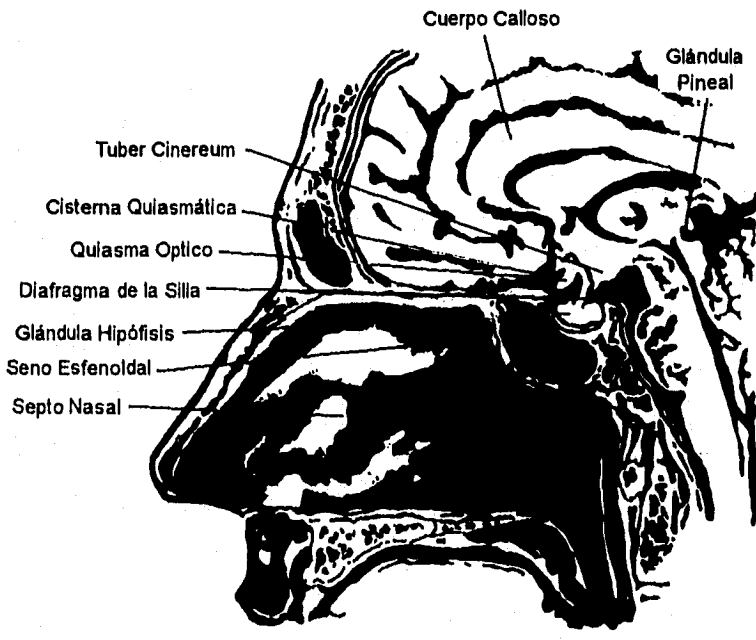


Figura 1. Localización de la glándula Hipófisis. (Tomado de : Netter, 1974).

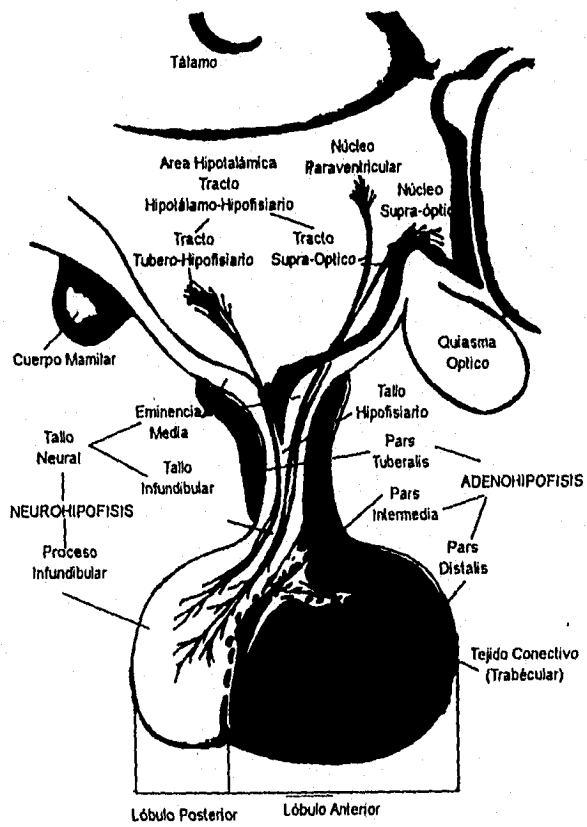
La hipófisis mide aproximadamente 1 cm de largo, de 1 a 1.5 cm de ancho y 0.5 cm de altura, pesa alrededor de 0.5 g. en los adultos, experimenta cierto aumento de tamaño durante el embarazo y puede pesar un gramo o más en mujeres que han dado a luz varias veces. Tiene dos componentes importantes: La neurohipófisis y la adenohipófisis. La neurohipófisis se subdivide en tres regiones: la eminencia media o infundíbulo, que es una prolongación del tuber cinereum; el tallo infundibular o tallo hipofisiario y el proceso infundibular o lóbulo posterior (lóbulo neural). La adenohipófisis se subdivide en: la pars distalis o lóbulo anterior, que corresponde a la porción glandular, es más grande que el lóbulo posterior y comprende aproximadamente el 80% de la hipófisis; la pars tuberalis y la pars intermedia. El tallo infundibular, junto con porciones de la adenohipófisis que forma una envoltura alrededor de éste, se denomina como tallo hipofisiario. En el hombre, la extensión del tejido neurohipofisiario hacia arriba del tallo y dentro de la eminencia media del tuber cinereum, puede constituir el 15% del total del tejido glandular (fig. 2).

a. Embriología

La hipófisis se origina de dos órganos embrionarios. El lóbulo anterior, o adenohipófisis, es un derivado ectodérmico del estomodeo, (o sea, se origina en el embrión como una evaginación dorsal del techo de la faringe embrionaria), y el lóbulo posterior, neurohipófisis, se deriva del ectodermo neural del piso del diencéfalo.

Anterior a la ruptura de la membrana oral, se forma una evaginación del ectodermo de la cavidad bucal primitiva y se extiende como una bolsa (bolsa de Rathke), en el revestimiento ectodérmico del piso del estomodeo. Esta bolsa de Rathke, se destina a formar el lóbulo anterior de la hipófisis. Esta se sitúa inmediatamente ventral al borde cefálico de la membrana del estomodeo y se extiende hacia arriba enfrente del extremo rostral de la notocorda, en contacto con la superficie inferior del diencéfalo. Posteriormente se circunda por el mesodermo que lo rodea para formar una cavidad cerrada. Su margen retiene temporalmente una conexión con el ectodermo del estomodeo por un cordón sólido de células, las cuales se encuentran en el borde posterior del septo nasal. Las células epiteliales crecen a cada lado y dentro de la pared ventral de la cavidad y el estroma del lóbulo anterior se desarrolla del mesénquima. El tallo original conectando la bolsa de Rathke con el estomodeo, conocido como el canal craneofaringeo, corre de la parte anterior de la fosa de la hipófisis a la superficie inferior del cráneo. Aunque usualmente se encuentra obliterada, puede persistir un remanente en la vida adulta como una " hipófisis faríngea ", embebida en la mucosa de la pared dorsal de la faringe.

Junto a la bolsa de Rathke, un hueco neural se extiende hacia la boca desde el piso del diencéfalo. Este proceso neural forma un



**Figura 2. Estructuras y partes de la glándula Hipófisis.
(Tomado de: Netter, 1974).**

saco en forma de embudo, el proceso infundibular, el cual se convierte en un cuerpo sólido, excepto en su extremo superior y en donde la cavidad persiste como depresión infundibular en el tercer ventrículo.

El lóbulo posterior de la hipófisis (pars nervosa), es cubierta por la extensión dorsal del lóbulo anterior, a cada lado.

El lóbulo anterior también origina dos procesos desde su pared ventral, la cual se extiende a lo largo del infundíbulo como la pars tuberalis y se fusiona para rodear el extremo superior del tallo en relación con el tuber cinereum.

La fisura, la cual puede ser identificada en cortes sagitales a lo largo de la glándula en el adulto, es el remanente de la cavidad original del divertículo del estomodeo. La pared dorsal de esta fisura permanece delgada y se fusiona con la parte contigua del lóbulo posterior para constituir la pars intermedia. En un corte horizontal de la glándula adulta, ésta porción puede ser identificada por su contenido de coloide en los folículos. La parte del tuber cinereum la cual se encuentra inmediatamente arriba de la pars tuberalis de la hipófisis se denomina la eminencia media (fig. 3).

La diferenciación histológica de la hipófisis progresa rápidamente en el embrión (Goodyer y cols. 1979). Cerca del tercer mes de gestación, se pueden encontrar células con gránulos acidófilos y basófilos en la adenohipofisis. Por medio de técnicas inmunocitológicas puede ser demostrada la presencia de todas las hormonas adenohipofisarias en la hipófisis fetal (Baker y Jaffe, 1975). La microscopía electrónica revela la presencia de gránulos de secreción en células adenohipofisarias en fases tempranas de la vida embrionaria. De acuerdo con los descubrimientos morfológicos, la técnica de radioinmunoensayo da evidencias de la producción de varias hormonas adenohipofisarias entre los 2 y 3 meses de gestación (Gluckman y cols. 1981).

Morfológicamente, el material neurosecretor en el lóbulo posterior es claramente visible aproximadamente al quinto mes de la vida intrauterina. Las hormonas neurohipofisarias, vasopresina y oxitocina, son sintetizadas en el núcleo supraóptico y paraventricular, llamado núcleo magnocelular del hipotálamo, y transportadas a lo largo de axones via el tallo hipofisario al lóbulo posterior. Al final del embarazo, el lóbulo posterior contiene cantidades substanciales de éstas dos hormonas. Al nacer, la hipófisis pesa aproximadamente 100 mg y es un órgano bien desarrollado, capaz de secretar todas las hormonas adenohipofisarias (Kovacs y Horvath, 1983).



1. Comienzo de la formación de la bolsa de Rathke y del proceso Infundibular



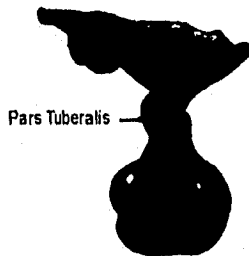
2. Cuello de la bolsa de Rathke constreñido por el crecimiento del mesodermo.



3. Bolsa de Rathke cerrada.



4. Una vez cerrado el segmento se forma la Pars Distalis, la Pars Intermedia y la Pars Tuberalis.



5. La Pars Tuberalis rodea el tallo infundibular.

Figura 3. Embriología de la glándula Hipófisis. (Tomado de: Netter, 1974).

b. Riego e inervación

La irrigación de la hipófisis es especial y está estrechamente implicada en el control de la actividad secretora de la glándula, ya que los vasos sanguíneos transportan hormonas hipotalámicas estimuladoras o inhibitorias, del infundíbulo a las células adenohipofisarias (Daniel y Prichard, 1975; Seehan y Kovacs, 1982).

La glándula hipófisis del hombre recibe riego sanguíneo arterial de dos sistemas pareados de vasos, las arterias hipofisarias superiores e inferiores (fig. 4). En la parte superior se encuentran las arterias hipofisarias superiores derecha e izquierda, que provienen de las carótidas internas y de la arteria comunicante posterior del polígono de Willis. Cada arteria hipofisaria superior se divide en dos ramas principales, las arterias hipofisarias anterior y posterior, las cuales se anastomosan ampliamente en la región de la eminencia media del hipotálamo y de la base del tallo hipofisario. De éstos vasos, salen capilares que constituyen el llamado plexo primario, que se extiende por la eminencia media, y regresan después a la superficie, donde confluyen en venas que corren hacia abajo rodeando al tallo hipofisario y van a irrigar los sinusoides de la adenohipofisis. Este sistema de conexiones venosas que enlazan los capilares de la eminencia media y los capilares sinusoidales del lóbulo anterior constituyen el llamado sistema portal hipofisario.

Las arterias hipofisarias inferiores, procedentes de la carótida interna, se arborizan en la cápsula de la glándula y envían ramas al lóbulo posterior, y en menor medida, se extienden hasta los sinusoides del lóbulo anterior. Junto a la unión de los lóbulos anterior y posterior, la arteria da lugar a uno o más vasos tortuosos enviándolos a la cápsula de la pars distalis y finalmente se divide en dos ramas principales: la arteria hipofisaria inferior lateral y media.

El proceso infundibular es rodeado por un anillo arterial formado por las ramas lateral y media de las arterias hipofisarias pareadas inferiores. De este anillo arterial salen ramas al lóbulo posterior y a la parte inferior del tallo infundibular. Los componentes del sistema arterial hipofisario inferior y superior se anastomosan libremente.

El tejido epitelial de la pars distalis, no recibe directamente sangre arterial. Los sinusoides del lóbulo anterior reciben suplemento sanguíneo de los vasos hipofisioportales, los cuales provienen de capilares dentro de la eminencia media y de las porciones superior e inferior del tallo infundibular.

La sangre es transportada de su red capilar primaria a través de las venas hipofisioportales al tejido epitelial del lóbulo anterior. Aquí se forma un plexo secundario del sistema portal hipofisario, que conduce al seno venoso dural, el cual rodea a la hipófisis, y a la circulación general. Algunas de las venas

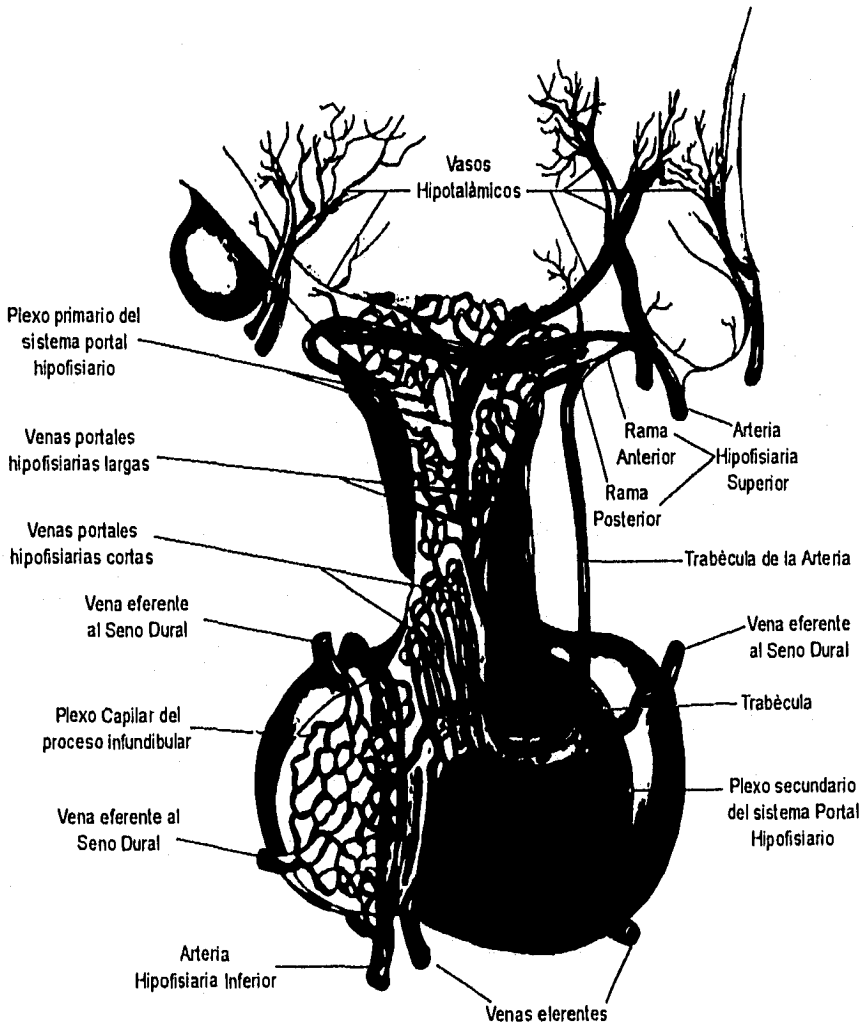


Figura 4. Riego sanguíneo de la glándula Hipófisis. (Tomado de: Netter, 1974).

portales hipofisiarias largas corren a lo largo de la superficie del tallo, principalmente en su parte anterior y lateral.

Muchos de los vasos portales hipofisiarios largos, salen del tejido neural y corren dentro de la pars tuberalis, hasta alcanzar la pars distalis. Las venas portales hipofisiarias cortas estan embebidas en el tejido rodeando la parte inferior del tallo infundibular y el lóbulo posterior. Ellas suministran la red sinusoidal de la parte posterior de la pars distalis, mientras las venas portales largas suministran a las regiones anterior y lateral. Parece ser que aproximadamente del 70 al 90% de la sangre que fluye hacia la adenohipófisis proviene de las venas portales largas y aproximadamente del 10 al 30% de los vasos portales cortos.

La inervación de la hipófisis ha sido sometida a numerosas investigaciones (Sheehan y Kovacs, 1982). El lóbulo posterior compuesto de fibras nerviosas, terminales axonales, pituicitos y material neurosecretor, tiene un contacto morfológico y funcional íntimo con el hipotálamo. La inervación principal de la neurohipófisis es el sistema hipotálamo-hipofisiario, el cual corre del hipotálamo al lóbulo posterior pasando por el tallo hipofisiario. Este consiste en dos partes principales: el sistema supra-opticohipofisiario, corriendo en la pared anterior o ventral del tallo y el sistema tuberohipofisiario en la pared posterior o dorsal del tallo. El sistema tuberohipofisiario se origina en la parte central y posterior del hipotálamo, posiblemente del núcleo paraventricular y de células aisladas y de núcleos en la región tuberal y de los cuerpos mamilares. Este sistema en la región dorsal de la eminencia media es mas pequeño y consiste de finas fibras (fig. 2).

El sistema supra-opticohipofisiario se origina de los núcleos supraoptico y paraventricular. Este sistema transporta vasopresina y oxitocina y sus proteínas acarreadoras, neurofisinas, al lóbulo posterior a lo largo de fibras nerviosas no mielinizadas. En el tallo neural todas las fibras se congregan dentro de un paquete denso en posición central, dejando una zona periférica en contacto con la pars tuberalis, la cual esta relativamente libre de elementos nerviosos. El sistema hipotálamo-hipofisiario termina principalmente en la neurohipófisis, probablemente en las tres partes.

Aunque la pars intermedia tiene una rica inervación en algunas especies (Cox y cols. 1978), debido a su proximidad con el cerebro, la pars distalis no tiene un suplemento directo, excepto por pocas fibras nerviosas simpáticas, las cuales penetran el lóbulo anterior a lo largo de los capilares. Las fibras nerviosas pericapilares pueden afectar el flujo sanguíneo a la adenohipófisis, pero no tienen importancia en la regulación de la secreción hormonal de la adenohipófisis.

Hay trabajos aislados acerca de la presencia en algunas especies de raros haces de axones amielínicos localizados en la pars distalis en el tejido conjuntivo perisinusoidal y en los delicados tabiques que rodean a los acúmulos de células secretoras.

No esta claro si son funcionalmente significativos o representan la invasión de la pars distalis por nervios aberrantes de la pars intermedia y de la pars tuberalis. Hasta ahora no se han encontrado pruebas fisiológicas en apoyo de un control neural de la secreción de la pars distalis (Fawcett, 1989).

c. Histología

Adenohipófisis

La pars distalis o lóbulo anterior, está constituido por células glandulares, dispuestas en cordones y grupos irregulares. Están íntimamente relacionadas con una extensa red de sinusoides de pared delgada del sistema vascular sanguíneo. Está en gran parte encerrado por una cápsula de colágena densa. El estroma de la glándula no es abundante, pero algunas fibras colágenas que acompañan a las arterias hipofisarias superiores y a las vénulas portales, penetran en el lóbulo anterior en el polo próximo a la pars tuberalis y se abren en abanico a un lado y a otro, extendiéndose aproximadamente por un tercio de la glándula. Entonces se continúan con las fibras reticulares que rodean a los cordones de las células parenquimatosas y que dan apoyo a las ramas pequeñas de la arteria hipofisaria y a los sinusoides. Los sinusoides de la periferia de la glándula se continúan con las vénulas colectoras, que se reúnen en un plexo venoso abundante en la cápsula.

La histología de la hipófisis sigue siendo confusa, debido a las múltiples técnicas de coloración y fijación usadas, así como a la variabilidad de nombres aplicados para denotar los tipos celulares. Russfield en 1968 reportó la existencia de 3 tipos celulares en la adenohipófisis, con base en la afinidad de los gránulos de secreción de las células glandulares, por los colorantes utilizados en la tinción histológica ordinaria. Estos tipos son: células acidófilas (que constituyen el 40% de la población celular de la adenohipófisis), células basófilas (10%) y células cromóforas (50%). Sin embargo con las técnicas de tinción convencionales no es posible identificar el contenido hormonal de las células, ya que no existe relación específica entre los tipos celulares y la función secretora específica (Kovacs y col. 1981).

Actualmente por medio de las técnicas inmunohistoquímicas se sabe que la adenohipófisis está formada por cinco tipos celulares distintos: (1) células somatotrofas, productoras de hormona de crecimiento; (2) células lactótrofas, productoras de hormona prolactina; (3) células corticotrofas, productoras de hormona adrenocorticotrofa y sus péptidos relacionados: hormona melanocorticotrofa, hormona lipocorticotrofa y endorfinas. (4) células

tirótrofas, que producen hormona tirótrofa; (5) células gonadótrofas que producen hormona estimulante del folículo y hormona luteinizante.

Células somatotrofas

Estas células constituyen aproximadamente el 50% de todas las células adenohipofisarias y están localizadas principalmente en las partes laterales de la adenohipófisis (fig. 5), pero pueden encontrarse también localizadas en la parte central distribuidas al azar (Halmi y col. 1975.; Calderon y col. 1978.; Horvath y Kovacs 1980.). Son células de mediano tamaño, esféricas u ovals, con núcleo esférico usualmente localizado en la parte central de la célula el cual presenta un nucléolo prominente. Su citoplasma presenta numerosos gránulos de secreción, la mayoría esféricos, con un diámetro de 350 a 500 nm en promedio, pero pueden medir hasta 800 nm. El retículo endoplásmico rugoso está bien desarrollado, aparato de Golgi conspicuo conteniendo gránulos de secreción inmaduros. Las mitocondrias son ovoides, con cisternas lamelares y matriz moderadamente electrón densa. El número, distribución y morfología de estas células es constante en la adenohipófisis humana y parecen no ser afectadas por la edad, el sexo, diferentes condiciones hormonales y tratamiento con drogas.

Células lactotrofas

Las células productoras de hormona prolactina (llamadas también lactótrofas, luteotrofas o mamotrofas), constituyen aproximadamente del 15 al 25% de las células adenohipofisarias, están distribuidas al azar en la pars distalis, pero son especialmente numerosas en la porción posterolateral, junto al lóbulo posterior.

Usando técnicas de tinción convencionales, estas células son indistinguibles de las células productoras de hormona de crecimiento, pero con los métodos inmunohistoquímicos se observó que estas son un tipo celular distinto (Halmi, N.S. y col. 1975).

Se distinguen dos tipos de células productoras de prolactina: las densamente granuladas y las escasamente granuladas. Las células densamente granuladas son grandes polihedricas o elongadas, frecuentemente localizadas junto a los capilares pero sin ninguna preferencia por alguna área en particular de la pars distalis.

Tienen citoplasma abundante casi completamente ocupado por gránulos de secreción, de forma esférica u ovoide, los cuales miden de 500 a 700 nm de diámetro. El retículo endoplásmico está moderadamente desarrollado, consistiendo de cisternas paralelas, localizadas principalmente en la periferia del citoplasma. El aparato de Golgi es conspicuo y contiene algunos gránulos de secreción inmaduros.

Las células escasamente granuladas son alargadas o angulares, frecuentemente están formando grupos y poseen largos procesos citoplásmicos, tienen complejo de Golgi evidente de estructura

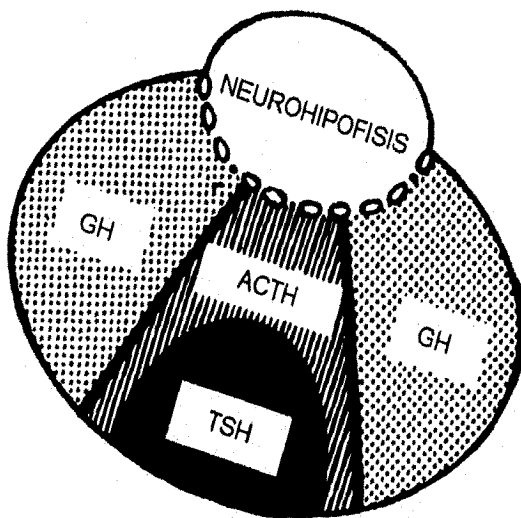


Figura 5. Localización predominante de los tipos celulares por secreción hormonal. (Tomado de: Kovacs y Horvath, 1983).

globular u ovoide y están caracterizadas por presentar de retículo endoplásmico rugoso abundante. Los gránulos de secreción son menos abundantes, están distribuidos al azar en el citoplasma y tienen un tamaño de 200 a 350 nm de diámetro. La liberación de los gránulos de secreción (exocitosis) puede ocurrir en la superficie capilar de las células y también en la superficie lateral, lejos de los capilares y membranas basales, a lo cual se le ha llamado exocitosis errática (Horvath y Kovacs, 1974). No hay diferencias en el número de células de prolactina entre el hombre y la mujer y no hay cambio con la edad.

Células corticotrofas

Constituyen aproximadamente del 15 al 20% de las células adenohipofisarias (Phifer, 1970, 1974; Halmi y col. 1977; Horvath y Kovacs, 1980). Son muy numerosas y representan el tipo celular predominante en la parte media de la pars distalis, pero pueden encontrarse células individuales esparcidas en las partes laterales. Son células de tamaño medio, ovoides, poliédricas o angulares, con núcleo ovoide o esférico. Muchas poseen una vacuola perinuclear que no se tiñe, el cual es llamado cuerpo enigmático, que es útil en la identificación de estas células.

Ultraestructuralmente presentan un citoplasma bien desarrollado, con un núcleo que contiene un nucléolo prominente, frecuentemente unido a la membrana nuclear. El retículo endoplásmico rugoso tiene cisternas ligeramente dilatadas, numerosos ribosomas libres, complejo de Golgi de cisternas esféricas o aplanadas. Las mitocondrias son esféricas u ovoides con matriz moderadamente electrón densa. Los gránulos de secreción son numerosos, esféricos o irregulares, con un tamaño de 250 a 700 nm de diámetro, los cuales frecuentemente se alinean a lo largo de la membrana celular. Una característica estructural de estas células es la presencia de filamentos tipo I en el citoplasma, localizados principalmente junto al núcleo (Kovacs y col. 1974). Estos miden aproximadamente 7 nm de ancho y varían en cantidad de célula a célula.

Células tirótrofas

Son el tipo celular menos numeroso de la adenohipofisis, estas comprenden aproximadamente el 5% de las células adenohipofisarias (Phifer y Spicer, 1973; Horvath y Kovacs, 1980). Son células de tamaño medio, angulares, con largos procesos citoplásmicos y están localizadas principalmente en la porción media anterior de la pars distalis, usualmente cerca de los capilares. Ultraestructuralmente presentan núcleo excéntrico de forma esférica u ovoide, con un citoplasma bien desarrollado conteniendo pequeños perfiles de retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golgi esférico numerosos microtúbulos. Los gránulos de secreción son esféricos, con densidad electrónica variable y con un diámetro de 100 a 300 nm, la mayoría de ellos se encuentran alineados a lo largo de la membrana celular (Moriarty y Tobin, 1976), aun que esta

característica no es específica de las células tirotróficas, ya que también se pueden presentar en las corticotrofas, gonadótroficas y células indiferenciadas.

Células gonadotrofas

Constituyen aproximadamente el 10% de las células adenohipofisarias (Phifer, Midgley y Spicer, 1973; Horvath y Kovacs, 1980), están distribuidas por toda la pars distalis, mostrando alguna acumulación posterolateral. Son células esféricas u ovoides de tamaño variado, tienen núcleo esférico u ovoide y citoplasma bien desarrollado. Por inmunohistoquímica se ha encontrado hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH), en el citoplasma de la misma célula (Pelletier y col. 1978). Sin embargo algunas sólo contienen FSH o LH, sugiriendo la existencia de clonas que probablemente sintetizan solo un tipo hormonal. Ultraestructuralmente son células ovales, largas localizadas junto a los capilares. Tienen un núcleo esférico excéntrico y un citoplasma bien desarrollado. Los perfiles de retículo endoplasmático rugoso son abundantes y ligeramente dilatados y el aparato de Golgi con algunos gránulos de secreción en desarrollo. Los gránulos de secreción están distribuidos en forma desigual en el citoplasma, estos parecen formar dos poblaciones, una de gránulos que miden de 200 a 300 nm de diámetro, y otra de 300 a 500nm. Las células gonadótroficas pueden ser encontradas en la hipófisis fetal y no son muy numerosas antes de la pubertad.

Pars tuberalis

Es una parte de la adenohipófisis (Asa y col. 1983) que se continúa extendiéndose hacia arriba de la pars distalis. Esta formada por pequeños cordones de células columnares cuboidales o poliédricas o de células individuales localizadas entre los vasos sanguíneos orientadas longitudinalmente.

Histológicamente son semejantes a las células de la pars distalis, contienen gránulos de secreción pequeños, gotas de lípidos así como partículas de glucógeno ocasionales. Por inmunohistoquímica se encontró en su citoplasma la presencia de hormona estimulante del folículo y de hormona luteinizante, evidenciando que la mayoría son gonadótroficas. Ocasionalmente las células tienen hormona adrenocorticotrofica o tirotrófica. Ultraestructuralmente presentan retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi, gránulos de secreción numerosos y grandes lisosomas.

Pars intermedia

Se encuentra localizada entre la pars distalis y el lóbulo neural ocupando aproximadamente el 2% de la glándula entera. La pars intermedia consiste de cavidades de tamaño variado, forradas por una capa sencilla de epitelio cuboidal parcialmente ciliado y están ocupadas con un material acidófilo de tipo coloidal, conteniendo algunos restos celulares ocasionales. Algunas células presentan por inmunohistoquímica, hormona adrenocorticotrofica,

hormona lipocorticotrofa beta y endorfinas y ocasionalmente algunas células presentan prolactina y hormonas glicoproteicas como las gonadótropas y la tirótropa.

Neurohipófisis

Es una parte del sistema nervioso que está constituida predominantemente por pituicitos, que son células alargadas con procesos citoplásmicos delgados que frecuentemente contienen gránulos de pigmento café-amarillento, los cuales incrementan en número con la edad. Estas células, que son las células gliales del lóbulo posterior, tienen la función de soporte y pueden fagocitar material extracelular, pero no participan activamente en la secreción hormonal. Entre los pituicitos y los capilares se pueden observar numerosas fibras nerviosas amielínicas. Las terminales axonales están más frecuentemente localizadas a lo largo de los capilares. La neurohipófisis está extensamente vascularizada con capilares de endotelio fenestrado. El material neurosecretor se puede observar por microscopia de luz, el cual consiste de gránulos de varios tamaños, forma y densidad, localizados en el axoplasma de las fibras nerviosas. Los gránulos secretores contienen vasopresina, oxitosina y neurofisinas.

d. Fisiología

La hipófisis es la glándula más importante del cuerpo ya que produce al menos seis hormonas solo en su parte anterior, estas son: hormona de crecimiento o somatotropina (GH), hormona prolactina, lactogénica o luteotrópica (LTH), hormona tirotrópica (TSH), hormona estimulante del folículo (FSH), hormona luteinizante (LH), hormona adrenocorticotropina (ACTH).

Las hormonas son sustancias químicas de diversa complejidad estructural, las cuales son producidas en pequeñas cantidades. Actúan como mensajeros químicos al ser transportadas por la sangre hasta determinados órganos, los cuales constituyen sus blancos u objetivos y en los que se estimulan o inhiben una gran variedad de actividades fisiológicas o metabólicas. Las funciones de cada una de las hormonas hipofisarias se describen a continuación.

Hormona de crecimiento (GH)

La hormona de crecimiento es una proteína constituida por 191 aminoácidos, con un peso molecular de 21,000 y carente de componente hidrocarbonado, no tiene órgano blanco específico sino que ejerce un efecto generalizado sobre las células del cuerpo, aumentando la velocidad de la síntesis de proteínas. Es importante en la regulación de la glucosa sanguínea, ya que actúa impidiendo que la mayoría de las células del cuerpo (como las musculares) sigan absorbiendo glucosa de la sangre. Esto frena el descenso de la glucosa sanguínea. No tiene efecto sobre las células del encéfalo, por lo que hay glucosa suficiente disponible para el sistema nervioso. Participa en el metabolismo de los ácidos grasos, produciendo la fragmentación de las grasas a ácidos grasos libres, los cuales penetran a la sangre y en la mayoría de las células los utiliza como abasto de energía (Tanner, 1972). Su función más importante es su efecto en el crecimiento, el cual durante la infancia es mediado por las somatomedinas, que se sintetizan en el hígado y en otras partes como respuesta a la hormona de crecimiento. Las somatomedinas a su vez estimulan la proliferación del cartílago que es necesaria para el crecimiento en longitud de los huesos largos.

Si hay un exceso de producción de esta hormona durante el desarrollo, produce gigantismo o si por lo contrario hay deficiencia se presenta el enanismo. Si ocurre producción excesiva después que las epífisis de los huesos largos se han fusionado y ha cesado el crecimiento en longitud, produce un engrosamiento desproporcionado de los huesos, afecta a los tejidos blandos como la lengua y a los huesos de manos, pies y cara como la nariz, este padecimiento se conoce como acromegalia.

Prolactina

La hormona lactogénica es una proteína de peso molecular de alrededor de 25,000, constituida por una cadena única de 205 aminoácidos. Su función principal es promover el desarrollo de la glándula mamaria y la lactación. Durante el embarazo aumenta de modo progresivo su concentración en la sangre, desde la quinta semana hasta su término, cuando alcanza niveles diez veces superiores a los de la mujer no gestante. Estimula el desarrollo de la glándula mamaria, pero el efecto lactogénico de la hormona es suprimido hasta el nacimiento del niño por los niveles elevados de estrógenos y de progesterona. A continuación del parto, la caída rápida de estas hormonas ováricas permite que pueda expresarse plenamente el efecto lactogénico. La producción de la prolactina es estimulada por la succión del pezón. Los nervios sensoriales de los pezones envían impulsos hasta el hipotálamo, el cual estimula la producción de la prolactina en la pituitaria anterior. Si cesa la succión del pezón, la secreción de prolactina desciende a cifras muy bajas y en poco tiempo, las glándulas mamarias dejan de secretar leche. Una producción elevada de prolactina se manifiesta por la secreción anormal de leche, a la cual se le da el nombre de galactorrea y una suspensión del ciclo menstrual o amenorrea.

La prolactina participa también en el mantenimiento del cuerpo lúteo por lo que se le ha llamado hormona luteotropa (LTH).

Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)

La adrenocorticotropina es un polipéptido de cadena lineal de 39 aminoácidos y un peso molecular de alrededor de 4,500. Se produce en las células corticotropas por escisión proteolítica de una molécula precursora más grande, la pro-opiocortina o pro-opiomelanocortina. Otro producto de escisión, la hormona beta-lipotrópica (LPH), se segrega junto con la ACTH, pero no se le ha identificado todavía ningún efecto periférico. La LPH puede ulteriormente ser descompuesta para producir la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y la beta endorfina. El papel fisiológico de estos péptidos no está todavía aclarado. La función de la ACTH es estimular a la corteza adrenal para que segregue cortisol y también está implicada en la estimulación de la producción de aldosterona y andrógenos, pero en estos casos probablemente no actúe sola.

La producción excesiva de ACTH da como resultado la enfermedad llamada síndrome de Cushing, la cual se caracteriza por causar hiperglucemia asociada con obesidad central, con miembros tendiendo a ser relativamente delgados, contrastando con una cara redonda y tronco grueso. Hay supresión de la respuesta inflamatoria, músculos débiles, dolor lumbar debido a la pérdida de calcio de la columna vertebral, hipertensión, producción excesiva de glóbulos rojos y desarrollo de barba y de vello en otras partes del cuerpo, especialmente en mujeres.

Tirotropina TSH

La hormona estimuladora de la tiroides es una glucoproteína de peso molecular de 2,800. Parece ejercer su efecto exclusivamente sobre la glándula tiroidea, en la cual promueve la proteólisis de la tiroglobulina y la liberación de hormona tiroidea a la sangre. Las funciones de la hormona tiroidea son aumentar la tasa de metabolismo basal, contribuir con la hormona de crecimiento y la insulina en el crecimiento, estimular la absorción de la glucosa en el intestino, disminuir los niveles de colesterol en la sangre, convertir los carotenos en vitamina A y colaborar en la acción de la adrenalina en el sistema nervioso autónomo. También produce hipertrofia de las células tiroideas y aumenta la velocidad de su síntesis de hormona tiroidea. La secreción aumentada de la hormona tiroidea (hipertiroidismo tóxico), es la causante del bocio, el cual puede ser producido por una hiperactividad del hipotálamo, de la hipófisis o de la tiroides misma. Los individuos que padecen esta enfermedad, presentan una tasa metabólica basal muy elevada con sudoración abundante, frecuencia cardíaca elevada y globos oculares sobresalidos.

Gonadotropinas

Hormona folículo estimulante (FSH)

La hormona estimulante del folículo es una glucoproteína de peso molecular de alrededor de 30,000. En la mujer hay cada mes un aumento y disminución cíclicos de la secreción de FSH. Un nivel elevado estimula el desarrollo de varios folículos del ovario, como preparación para la ovulación de uno de ellos, u ocasionalmente de dos, en el momento medio del ciclo. En el varón, la FSH juega un papel importante en la iniciación de la espermatogénesis durante la pubertad.

Hormona luteinizante

Es también una glucoproteína, que tiene un peso molecular de alrededor de 26,000. En la mujer actúa sobre el ovario, promoviendo la secreción de progesterona y estrógenos por los folículos en desarrollo. Es necesaria para la maduración del folículo y una elevación de esta en la mitad del ciclo, dispara los mecanismos de la ovulación. Después de la ovulación, produce la diferenciación de las células luteínicas del cuerpo lúteo. En el hombre estimula a las células intersticiales del testículo para que segreguen testosterona, que es esencial para el mantenimiento de la espermatogénesis.

Neurohipófisis

La neurohipófisis almacena y secreta dos hormonas importantes, la hormona antidiurética o vasopresina y oxitocina. Ambas son sintetizadas por las células del hipotálamo, las cuales unidas a pequeñas proteínas llamadas neurofisinas, viajan a lo largo de las fibras nerviosas que corren del tallo pituitario hasta la neurohipófisis y una vez en la glándula son liberadas a la sangre.

Oxitocina

Durante el parto, los receptores sensoriales de la pared uterina y del cervix son activados y envían impulsos nerviosos hasta el hipotálamo, el cual estimula la producción de oxitocina la cual hace que el útero se contraiga, ayudando a la expulsión del producto.

También tiene una función esencial en la expulsión de la leche de las glándulas mamarias. Cuando el bebé succiona el pezón, se activan los receptores sensoriales del mismo, enviando impulsos al hipotálamo el cual estimula la secreción de oxitocina. Esta viaja en la sangre hasta las glándulas mamarias haciendo que se contraigan las células mioepiteliales, forzando la secreción de la leche.

Vasopresina

Esta hormona actúa sobre el riñón reduciendo la filtración de agua y disminuyendo la producción de orina. Si el contenido de agua en el cuerpo es bajo, el plasma se concentra. Este cambio en la concentración del plasma es detectado por el hipotálamo, el cual aumenta la producción de vasopresina que viaja en la sangre hasta los riñones, reduciendo la cantidad de agua eliminada en la orina, disminuyendo el volumen de orina y volviendola más concentrada. Pero si el plasma se diluye por una mayor contenido de agua, el hipotálamo disminuye la cantidad de vasopresina, permitiendo que el riñón excrete un gran volumen de orina diluida. Si hay ausencia de vasopresina por daño a la hipófisis o al hipotálamo, se secreta gran cantidad de orina diluida, padecimiento que se conoce como diabetes insípida.

e. Control de la función adenohipofisiaria

La síntesis y/o la liberación de las hormonas hipofisiarias, es controlada de un modo jerárquico que implica tres etapas sucesivas de las interacciones celulares hormona-blanco, en donde el hipotálamo está íntimamente involucrado, ya que es el centro más importante de la regulación neuroendócrina (fig 6).

El hipotálamo recibe los mensajes nerviosos específicos de los estímulos externos y como resultado secreta minúsculas cantidades de hormonas denominadas factores liberadores, que viajan a lo largo de las fibras nerviosas pasando a la parte anterior de la hipófisis. En esta, cada uno de los factores liberadores dispara la secreción de una hormona específica por parte de la glándula.

En el caso de la ACTH, su producción está controlada por la secreción del factor liberador de la corticotropina (FLC), el cual es vertido en los vasos sanguíneos portales de la hipófisis. La producción de este depende a su vez del nivel de cortisol, ya que si este es alto, la producción del FLC disminuye y con ello desciende la producción de ACTH, si por lo contrario es bajo, la

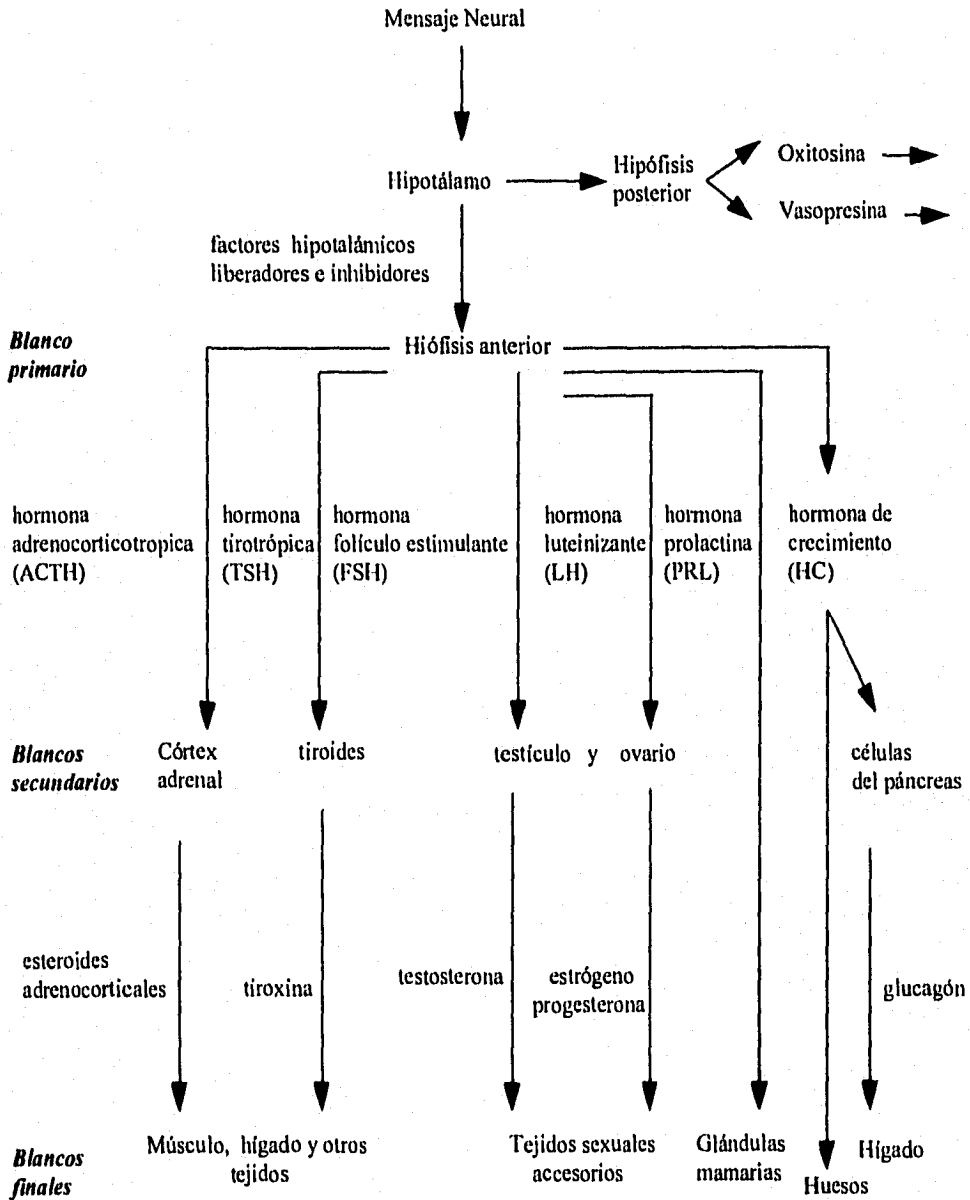


Figura 6. Etapas de las interacciones celulares , hormona blanco, en el eje hipotálamo - hipofisiario. (Tomado de: Lehninger, 1982).

producción de FLC y ACTH se elevan. Lo mismo sucede con la hormona tirotrópica, que es controlada por el nivel de hormona tiroidea en la sangre y por la cantidad del factor liberador tiroideo (FLT). La secreción del FLT puede también aumentar por la exposición prolongada al frío, que provoca la elevación de la tasa metabólica, aumentando la cantidad de calor producida por el cuerpo y por el aumento prolongado de ingestión de alimento, elevando nuevamente la tasa metabólica para digerir el alimento más eficazmente. Las gonadotropinas son controladas de esta forma, por el factor liberador de la gonadotropina (FLGn).

La producción de la hormona de crecimiento puede ser controlada por los niveles de glucosa sanguíneos. Se eleva la producción de hormona de crecimiento cuando la glucosa desciende y disminuye cuando la glucosa aumenta. También su secreción es estimulada por la dopamina e inhibida por la somatostatina, por medio de su factor liberador e inhibidor (Schachar, 1976). La producción de la prolactina, como ya fué mencionado, es estimulada por la succión del pezón, pero es la única hormona que es predominantemente inhibida por el hipotálamo. Anteriormente se hablaba de un factor inhibidor de la prolactina (PIF), del que no se sabía su naturaleza química, pero posteriormente se observó que la dopamina es capaz de mantener este control inhibitorio (Shaar y Clemens, 1974), por lo que se ha considerado que este es el factor inhibidor, ya que se ha demostrado la presencia de receptores de la dopamina en la membrana de las células hipofisiarias (Brown, 1976) y ha sido detectada en el plasma de los vasos portales hipofisiarios (Ben-Jonathan, 1976). La liberación de la prolactina puede ser suprimida por agonistas de la dopamina como la bromocriptina, la cual es utilizada actualmente para controlar la secreción anormal de esta hormona.

Así pues, prácticamente todas las funciones de la adenohipófisis dependen de péptidos mensajeros enviados desde el hipotálamo por medio de la circulación portal (Guillemin, 1973; Schally y col. 1974). La secreción de TSH, FSH, LH y ACTH se produce en respuesta a hormonas liberadoras. Por otra parte, la prolactina parece estar bajo una inhibición tónica del hipotálamo.

f. Patología de la adenohipófisis

Los adenomas son los tumores que más afectan a la hipófisis. Constituyen aproximadamente del 10 al 15% de las neoplasias intracraneanas (Rosai, 1989), la mayoría se originan en la adenohipófisis, ocurren más frecuentemente en adultos y muestran discreta tendencia por el sexo masculino. Pueden sintetizar y liberar una o más hormonas provocando alteraciones en el equilibrio endócrino, se manifiestan clínicamente por signos de hipopituitarismo debidos a la compresión de la glándula por el tumor, por síntomas y signos de compresión de estructuras adyacentes o por la secreción aumentada de una o más hormonas específicas, causando alteraciones visuales (síndrome quiasmático), cefalea, síndrome de amenorrea - galactorrea, gigantismo o acromegalia, o síndrome de Cushing (Aron, 1995). Sin embargo del 25% al 50% de los adenomas no secretan hormonas (Martínez, 1986; Kontogeorgos, 1991).

Hardy (1973), propuso la siguiente clasificación de los adenomas, basandose en su tamaño y extensión a estructuras vecinas (fig 7), observada por medio de resonancia magnética y tomografía computarizada:

Grado I : Microadenomas, que miden menos de 10 mm de diámetro y modifican mínimamente el aspecto radiológico de la silla turca.

Grado II : Adenomas de más de 10 mm de diámetro, que ensanchan la silla, pero no la destruyen.

Grado III : Adenomas invasores, que erosionan localmente la silla turca y muestran extensión suprasillar discreta, moderada o marcada.

Grado IV : Adenomas extensamente invasores, con destrucción de estructuras óseas vecinas y extensión suprasillar como la descrita en el grado III.

Histológicamente, los adenomas son tumores densamente celulares, compuestos de células con núcleos condensados, redondeados y uniformes. Tales células pueden disponerse en grandes grupos (patrón difuso), alrededor de vasos sanguíneos sinusoidales (patrón sinusoidal), o recubriendo tallos conectivos-vasculares (patrón papilar). En todos los tipos, son raras las atipias celulares y las figuras de mitosis.

De acuerdo con Russfield (1968), histológicamente los adenomas se clasificaban en acidófilos, basófilos y cromófobos, pero debido a la poca utilidad clínica de esta clasificación, se aplicaron las técnicas inmunohistoquímicas para detectar los tipos de hormonas secretadas por las células tumorales. Esta técnica asociada al uso de la microscopía electrónica de transmisión, ha permitido caracterizar las células neoplásicas en detalle y proponer una clasificación de los adenomas en 14 tipos diferentes, que permite









		EXPANSION SUPRA SILLAR		
ENCERRADO MICROADENOMA I < 10 mm		A	B	C
				
ADENOMA II > 10 mm		INVASIVO		
		LOCALIZADO III		
	DIFUSO IV			

Figura 7. Clasificación de los tipos de adenomas según Hardy. (Tomado de: Kovacs y Horvath, 1983).

una mejor correlación entre el tipo celular y la actividad secretora, con el cuadro clínico y los datos de laboratorio de los pacientes, lo que no era posible realizar con la antigua clasificación (Kovacs, 1986).

g. Tipos de adenomas

Con base en las observaciones y clasificación propuesta por Kovacs y colaboradores (1986,1992), a continuación se describen los 14 tipos de adenomas hipofisarios.

Adenomas somatotrofos

Se dividen en dos tipos, densamente granulados y escasamente granulados. Los primeros presentan una incidencia del 8%, manifestándose clínicamente con acromegalia o gigantismo y niveles elevados de hormona de crecimiento. Presentan una reacción fuertemente positiva a la hormona de crecimiento con la inmunoperoxidasa y son acidófilos con la tinción de hematoxilina y eosina. Ultraestructuralmente presentan núcleo esférico, retículo endoplásmico, complejo de Golgi bien desarrollado y gránulos de secreción de 250 a 600 nm o más. Los escasamente granulados tienen incidencia del 9% con manifestaciones clínicas semejantes al densamente granulado y positividad a la hormona de crecimiento. Pueden ser cromófobos o ligeramente acidófilos. Ultraestructuralmente se caracterizan por la presencia de cuerpos fibrosos, múltiples centriolos y gránulos de secreción de 100 a 250 nm.

Prolactinomas

Igualmente se dividen en dos tipos. Los densamente granulados con incidencia menor al 5%, acidófilos y fuertemente positivos a la prolactina. Ultraestructuralmente presentan células y núcleos alargados y gránulos de secreción parcialmente pleomórficos de 600 nm o más. Los escasamente granulados presentan una incidencia mayor (30%) son fuertemente positivos a la prolactina y pueden ser cromófobos o ligeramente acidófilos. Clínicamente se presentan con hiperprolactinemia, en las mujeres causan amenorrea - galactorrea e infertilidad; en los hombres pérdida de la libido, impotencia e infertilidad. Se componen de células de núcleos irregulares con nucléolo prominente, caracterizándose por la presencia de retículo endoplásmico rugoso extenso arreglado lamelarmente y complejo de Golgi pequeño. Sus gránulos de secreción son pequeños (125 - 300 nm), pudiéndose observar algunos entre las membranas celulares, a lo cual se le llama excitosis errática.

Adenomas mixtos de hormona de crecimiento - prolactina

Son adenomas con una frecuencia del 4.5%, que se presentan con manifestaciones clínicas de elevación de hormona de crecimiento, acromegalia o gigantismo, frecuentemente combinada con síntomas de hiperprolactinemia. Presentan positividad tanto para la hormona de crecimiento como para prolactina y son acidófilos o cromófobos. Su estructura fina es una mezcla de células de hormona de crecimiento densamente granuladas o escasamente granuladas y células de prolactina.

Adenoma acidófilo de células primarias

Tienen una incidencia del 3.5%, los pacientes clínicamente presentan síntomas de hiperprolactinemia y en ocasiones pueden estar asociados con una apariencia acromegálica, sin elevación de los niveles séricos de hormona de crecimiento. Con la inmunoperoxidasa pueden presentar varios grados de positividad para la hormona de crecimiento y prolactina, pudiendo ser cromóforos o ligeramente acidófilos. Ultraestructuralmente son adenomas inmaduros con un citoplasma pobremente desarrollado, gránulos de secreción pequeños (150 - 300 nm), se pueden observar cuerpos fibrosos y anomalías mitocondriales y frecuentemente tienen mitocondrias numerosas (cambios oncocíticos).

Adenomas mamosomatotrofos

Son tumores que causan elevación de los niveles sericos de hormona de crecimiento y desarrollo de acromegalia. Pueden también presentar niveles de prolactina elevados. Muestran varios grados de acidofilia, fuerte positividad para la hormona de crecimiento y ligera para prolactina. Son tumores con células bien diferenciadas con características semejantes a las de hormona de crecimiento densamente granulados. Una característica adicional es la presencia de depósitos extracelulares de material secretor. Su incidencia es del 1.5%.

Adenoma corticotrofo funcionante

Son tumores con una incidencia del 8%, que presentan ACTH elevada y síndrome de Cushing. Son basófilos o raramente cromóforos, reaccionan positivamente a la tinción del ácido periódico de Schiff (PAS) y presentan varios grados de positividad para las hormonas ACTH, beta-LPH y endorfinas. Presentan células angulares con núcleo oval, retículo endoplásmico ligeramente dilatado, numerosos ribosomas libres, complejo de Golgi prominente y microfilamentos tipo I. Sus gránulos de secreción son abundantes, esféricos o irregulares, de 250 a 700 nm de diámetro, de densidad variable. La variante escasamente granulada es rara.

Adenoma corticotrofo silencioso

Se presentan con una frecuencia del 6%. Son tumores de características basófilas a cromóforos y positivos a la técnica de PAS. El nivel sérico de la ACTH puede estar elevado y con la inmunoperoxidasa se pueden encontrar varios grados de positividad para las hormonas ACTH, beta-LPH y endorfinas. Se dividen en tres subtipos. El subtipo I presenta todas las características inmunohistoquímicas y ultraestructurales de adenomas corticotrofos asociados a la enfermedad de Cushing (Horvath, 1980a) pero no presenta signos ni síntomas de esta y son encontrados en estado de macroadenoma. El subtipo II ocurre principalmente en hombres e incluso parecen ser productores de proopiomelanocortinas (POMC), (Horvath, 1980b). Ultraestructuralmente son semejantes a los corticotrofos funcionantes, pero estos no presentan filamentos tipo I y sus gránulos de secreción son de 250 a 300 nm de diámetro, los cuales son de forma esférica, irregular o en forma de gota, de variada densidad electrónica. El subtipo III parece ser

funcionante ya que con frecuencia los individuos presentan hiperprolactinemia moderada, asociada frecuentemente con amenorrea y galactorrea. En algunos hombres el tumor es no funcionante aunque en otros causa hiperprolactinemia o acromegalia con elevado nivel sérico de hormona de crecimiento. El tumor muestra positividad dispersa para la hormona de crecimiento, TSH y PMOC. El microscopio electrónico muestra células alargadas con núcleos de nucléolo prominente y frecuentemente múltiples. El retículo endoplásmico rugoso está bien desarrollado y hay cantidades variables de retículo endoplásmico liso. Complejo de Golgi de procesos largos, gránulos de secreción escasos de 200 nm de diámetro, mitocondrias frecuentemente arregladas en paquetes, desplazadas por la proliferación del retículo endoplásmico rugoso o liso.

Adenoma tirotrófo

Estos son los tumores menos frecuentes (< 1%), son cromóforos con varios grados de inmunopositividad para la hormona tirotrópica. Se manifiestan con nivel sérico elevado de esta hormona causando hipertiroidismo, o se puede desarrollar en sujetos con hipotiroidismo. Presenta células alargadas, angulares, frecuentemente con citoplasma poco desarrollado y gránulos de secreción pequeños (100-300 nm), escasos y alineados a lo largo de la membrana celular. Los bien diferenciados tienen retículo endoplásmico rugoso ligeramente dilatado y complejo de Golgi bien desarrollado. Ocasionalmente se observa retículo endoplásmico liso y agregados de filamentos intermedios.

Adenomas gonadotrofos

Son tumores cromóforos y en algunos casos con cambios oncócitos, presentan varios grados de acidofilia. Pueden presentar positividad para el PAS y grados variables de inmunorreacción para las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Tienen una incidencia del 2.5%. Los niveles séricos de FSH y/o LH pueden estar elevados aunque en algunos casos no presenta manifestaciones clínicas. Algunos tumores ultraestructuralmente presentan signos de inmadurez y otros son mas diferenciados con retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado y complejo de Golgi prominente. Sus gránulos de secreción son de forma esférica y con un diámetro menor a 150 nm. En este tipo de adenoma se presenta una diferencia o dicotomía ultraestructural asociada al sexo (Kovacs, 1978; 1980; Horvath, 1984), la cual consiste en la presencia de un complejo de Golgi bien desarrollado vacuolado, a lo que se le llama "complejo en panal de abejas", que se presenta en los tumores de mujeres.

Adenomas clínicamente no funcionantes

Se presentan predominantemente en personas de edad avanzada, quienes no presentan sobreproducción de ninguna hormona y desprovistos de marcadores morfológicos suficientes para indicar su derivación celular. Se conocen dos variantes: los adenomas de células nulas y los oncocitomas.

Adenomas de células nulas

Se presentan con una frecuencia del 17%. Son tumores de células cromóforas o ligeramente acidófilas, de citoplasma con organelos pobremente desarrollados a nivel ultraestructural, reflejando un tumor hormonalmente inactivo. Presentan un núcleo irregular, indentado y gránulos de secreción de 200 a 250 nm de diámetro.

Oncocitomas

Son tumores acidófilos o cromóforos con una incidencia del 6%, cuya característica ultraestructural y diferencia con los adenomas de células nulas es la presencia de abundantes mitocondrias y gránulos de secreción de 100 a 250 nm.

Adenomas plurihormonales

El término plurihormonal se refiere a tumores que son capaces de producir más de 1 hormona, fenómeno que se observa en algunos tipos de adenomas. Esto se diagnostica sólo si la inmunorreactividad es múltiple. Está asociada con funciones endócrinas múltiples, o si consisten en más de un tipo celular morfológicamente distinto (Horvath, 1992). Los sujetos con este tipo de adenoma presentan características endocrinológicas, histológicas y ultraestructurales variables, dependiendo de la actividad secretora. Estos tumores tienen una incidencia del 2.5%.

h. Comportamiento biológico de los adenomas hipofisarios

A pesar del aspecto histológicamente benigno de los adenomas hipofisarios, estos pueden tener un comportamiento invasor. Este factor no es indicativo necesariamente de malignidad, pues el crecimiento tumoral es lento y no se observan metástasis a distancia (Atienza, 1991). Se ha observado que la invasión tumoral a estructuras adyacentes ocurre de 5 a 20% de los casos (Crocker, 1978). Se han reportado metástasis a ganglios linfáticos, pulmón y médula espinal (Jamjoom, 1994; Atienza, 1991; Kowada, 1990).

El patólogo en la mayoría de los pacientes, no puede prever, por la apariencia histológica de los adenomas, si su comportamiento va o no a ser agresivo, ya que los pacientes con tumores con variaciones en el tamaño, forma y densidad nuclear, así como la presencia de células bi- o multinucleadas no necesariamente han tenido un mal pronóstico.

2. Introducción a la técnica de inmunoperoxidasa

Para distinguir los diferentes tipos celulares de la adenohipófisis y poder correlacionar sus características morfológicas con su actividad secretora, se han descrito muchos procedimientos de tinción (Ryan y col. 1977; Herbert y col. 1980; Brooks, 1968.), pero debido a la falta de uniformidad y a las modificaciones individuales, los resultados de diferentes laboratorios no son comparables, no son técnicas específicas ni confiables y algunas dan resultados irreproducibles que no tienen ningún valor (Kovacs y Horvath 1986).

Como ya se mencionó anteriormente, en la actualidad se sabe que no existe relación entre los tipos celulares y la función secretora específica, ya que dentro de las células acidófilas, se encuentran clasificadas aquellas que secretan la hormona lactogénica y la hormona de crecimiento y dentro de las basófilas están las que secretan la hormona adrenocorticotropina, tirotropina y las gonadotropinas. Las células cromóforas no son un tipo celular específico; a estas se les consideraba como no funcionantes, pero por medio de la microscopía electrónica se encontraron gránulos de secreción, demostrándose que poseen actividad endócrina. Debido a esto se han desarrollado diversas técnicas inmunocitológicas, que permiten caracterizar los tipos celulares.

El primero en aplicar procedimientos inmunocitológicos con el fin de demostrar hormonas adenohipofisarias en células de la hipófisis fue Marshall (1951), quien produjo un antisuero contra ACTH de cerdo en conejos adrenalectomizados, demostrando tinción citoplásmica selectiva en células basófilas en la hipófisis de cerdo, concluyendo que esta hormona era secretada por dichas células.

Posteriormente se aplicó la inmunofluorescencia para la localización de hormonas hipofisarias, reportándose la demostración de la presencia de ACTH, TSH, FSH, LH, HC y prolactina, en varias especies incluyendo la hipófisis humana. (Begeot y col. 1978; Dubois y col. 1978; Leznoff y col. 1960, 1962; Mc Gary y col. 1964; Nayac y col. 1968). Debido a que esta técnica debe ser realizada en cortes por congelación de tejido fresco, a la baja duración de la fluorescencia y a la falta de detalles citológicos observables al microscopio óptico, se restringió la aplicación de la inmunofluorescencia, por lo que fué necesario el desarrollo de un procedimiento alternativo. Nakane y Pierce, (1966), descubrieron el marcaje de anticuerpos por la conjugación con la peroxidasa de rábano, la cual es fácilmente visualizada en tejidos usando a la diaminobencidina como revelador. En 1968 Nakane demostró la presencia de hormonas adenohipofisarias en la hipófisis anterior, aplicando el método de la inmunoperoxidasa. La técnica de Nakane fue modificada por Mason en 1969, quien introdujo un puente enzimático, que es un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa, el cual a su vez se une al anticuerpo primario. Sternberger en 1974, desarrolló otro método basándose en el de Mason, en el cual el segundo anticuerpo o puente, no está marcado

y es aplicado un tercer componente llamado el reactivo PAP, el cual consiste de complejos inmunes de la enzima peroxidasa y de anticuerpos antiperoxidasa, derivados de las mismas especies del anticuerpo primario. El segundo anticuerpo ya unido al primario, se une al PAP cuando este es agregado. La unión en mayor cantidad de la enzima por antígeno, amplifica la reacción y eleva la sensibilidad. Por último, en 1979, Guesdon realizó otra modificación a la técnica, la cual se basa en la afinidad de la biotina, que es una vitamina que puede ser conjugada a proteínas, por la avidina, una glicoproteína derivada de huevo, en donde la reacción es irreversible. En este método, el segundo anticuerpo y la enzima peroxidasa son biotinilados (fig. 8). La biotina en la enzima peroxidasa es unida con la avidina, la cual, debido a que esta puede combinarse con 4 moléculas de biotina, también se une a la biotina en el segundo anticuerpo, formando un puente biotina - avidina, entre la enzima y el segundo anticuerpo. A través de esta afinidad biotina-avidina, se incrementa la sensibilidad del ensayo más que en la técnica de PAP (Ashton, 1985).

Fue así como a partir de la década de los 70, se empezaron a aplicar las técnicas inmunocitoquímicas en el estudio de los adenomas hipofisarios, para poder caracterizar su actividad secretora y realizar una clasificación con base en esta (Kovacs, 1975, 1983).

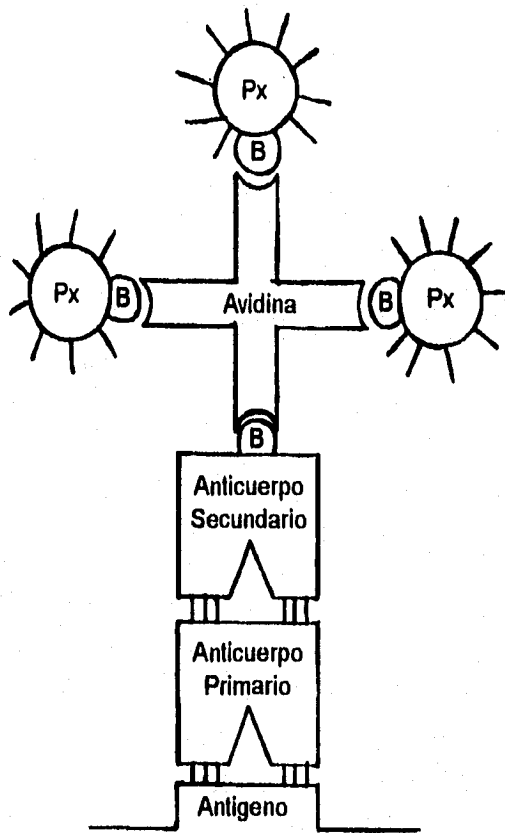


Figura 8. Pasos del método inmunohistoquímico, por avidina - biotina. B= biotina, Px= peroxidasa. (Tomado de: Ashton, 1985).

III. JUSTIFICACION

Debido a las limitaciones, ya mencionadas, de los diversos procedimientos de tinción que se han aplicado en el estudio de los diferentes tipos celulares de la adenohipófisis, se desarrollaron los métodos inmunohistoquímicos, con los cuales se puede detectar las hormonas específicas en el citoplasma celular, haciendo que esta técnica sea fundamental en la identificación celular adenohipofisiaria. La inmunoperoxidasa es muy valiosa, porque puede ser aplicada en tejido fijado en formalina e incluido en parafina, incluso en material de autopsia mantenido en parafina por varios años. Esta técnica produce preparaciones permanentes, las cuales pueden ser estudiadas por microscopia de luz y puede ser realizada en todos los laboratorios de patología. Los anticuerpos específicos contra las diferentes hormonas pueden ser adquiridos comercialmente. Si esta técnica se emplea adecuadamente, realiza una identificación celular específica reproducible y sensible de las hormonas almacenadas en el citoplasma celular (Kovacs y col. 1981; 1987). Por lo anterior la inmunoperoxidasa se ha convertido en una herramienta fundamental en el estudio de la patología de la adenohipófisis.

A pesar de que esta técnica ya esta completamente desarrollada y es usada para poder realizar diagnósticos diferenciales en el campo de la patología, no son aprovechadas sus características y ventajas en el diagnóstico de los adenomas hipofisarios en muchos laboratorios del país. Inclusive en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, se sigue usando la clasificación según Russfield. Debido a esto, se desarrolló el presente trabajo con los siguientes objetivos:

IV. OBJETIVOS

I Implementar la técnica de inmunoperoxidasa usando los anticuerpos contra las diferentes hormonas adenohipofisarias.

II Aplicar la técnica en los adenomas hipofisarios de cada paciente y reportar los resultados para que sea anexado a su expediente y estén a disposición del médico tratante.

III Caracterizar los tipos celulares, tomando en cuenta los resultados de la inmunoperoxidasa y análisis ultraestructural.

IV Clasificar los adenomas hipofisarios.

V Correlacionar el cuadro clínico y el perfil hormonal de los pacientes, con la inmunoperoxidasa y ultraestructura.

VI Correlacionar la actividad secretora de los adenomas, su aspecto histológico y ultraestructural, con su comportamiento biológico, especialmente su potencial invasor.

V. METODOLOGIA

Durante la realización de este trabajo de investigación, fueron obtenidas 122 biopsias de adenomas hipofisarios, realizadas por los neurocirujanos del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

Cada uno de los pacientes fueron sometidos a un estudio clínico-radiológico completo que incluyó: examen neurológico y neurooftalmológico, perfil hormonal completo, tomografía computarizada y resonancia magnética nuclear de cráneo. Todos los datos obtenidos con estos estudios fueron recabados de los expedientes de cada uno de los pacientes.

Cada una de las biopsias recibidas fueron divididas en dos partes. La primera se fijó en formol al 10% en amortiguador de fosfatos 0.1 M pH 7.2, se deshidrató en alcoholes de concentraciones graduales del 70% al 96% con cambios de una hora cada uno, dos cambios de una hora en alcohol al 100%, un cambio de una hora en una solución 1:1 de alcohol 100% - Xilol, dos cambios de una hora en xilol absoluto y por último dos cambios de una hora en parafina (Paraplast, Oxford USA). Todo este procesamiento se realizó en un procesador automático de tejidos (Histokinette 2000, Reichert-Jung). Posteriormente se incluyó en parafina y se cortó a un grosor de 4 μ m.

Las secciones fueron desparafinadas en xilol absoluto, en dos cambios de 15 minutos cada uno e hidratadas en cambios de 3 minutos en las siguientes soluciones: xilol-alcohol 100% 1:1, alcohol 100% dos cambios, alcohol 96%, alcohol 70% y agua destilada. Posteriormente fueron teñidas con hematoxilina y eosina, con la técnica de Wilder para fibras reticulares y con ácido periódico de Schiff (PAS), para glicoproteínas. Cada una de estas secciones fue evaluada, de manera semi-cuantitativa, en grados 0 a 3, con relación a las siguientes variables: densidad celular, irregularidad en la morfología celular (anisonucleosis), figuras de mitosis, áreas de necrosis y prominencia nucleolar.

En otros cortes de cada una de las biopsias y en cortes de hipófisis humana normal (usada como control positivo), se realizó la técnica de inmunoperoxidasa, aplicando los anticuerpos policlonales primarios (desarrollados en conejo), contra cada una de las hormonas adenohipofisarias: prolactina, hormona de crecimiento, hormona estimulante del folículo, hormona luteinizante, hormona estimulante de la tiroides y hormona adrenocorticotropina, (obtenidos en la compañía INC ImmunoBiologicals). Una sección extra de hipófisis humana normal sin anticuerpo primario fue usado como control negativo.

El procedimiento de la técnica (Taylor, 1986), fue el siguiente: Las secciones fueron desparafinadas por el procedimiento descrito anteriormente, en seguida fueron colocadas en una cámara húmeda a temperatura ambiente y se cubrieron los cortes con amortiguador de fosfatos salino (PBS), al 0.2M pH 7.2 por 5 minutos.

Posteriormente se incubaron en peróxido de hidrógeno al 3% en PBS por 15 minutos a temperatura ambiente y se enjuagaron con PBS 3 veces por 5 minutos cada vez. En seguida se incubaron con los anticuerpos primarios, a una concentración de 1:200 por una hora. Una vez transcurrido este tiempo se enjuagaron con el mismo amortiguador y se les agregó el anticuerpo puente biotinilado, cabra anti conejo, incubándose por 20 minutos. Después se enjuagaron nuevamente y se les aplicó la peroxidasa conjugada con estreptavidina por 20 minutos. Por último se enjuagaron y se revelaron con una solución de peróxido de hidrógeno al 0.01% y diaminobencidina al 0.05% en amortiguador de tris-HCl al 0.05M pH 7.2 por 5 minutos, al término del cual se lavaron en agua desionizada 2 veces por 5 minutos, se contratiñeron en hematoxilina de Gill por 15 segundos, se lavaron en agua destilada, se viraron en carbonato de litio, se deshidrataron y se montaron. La reacción de cada uno de los casos a las diferentes hormonas, fue evaluada semicuantitativamente de una a tres cruces, con base en la cantidad de células que resultaron positivas para cada hormona.

La segunda parte de cada biopsia, se seccionó a un tamaño de 3 mm cúbicos aproximadamente y se fijó en glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1M, pH 7.2 por una hora. Después se postfijó en tetraóxido de osmio al 1% en el mismo amortiguador, se deshidrató en acetonas de concentraciones graduales del 70% al 90% con un cambio de 10 minutos cada uno y dos cambios de 10 minutos en acetona absoluta. Posteriormente se preincluyeron en una mezcla 1:1 de acetona absoluta y resina epóxica por toda la noche. Al día siguiente se incluyeron en resina epóxica y se polimerizaron a 60 grados C. por toda la noche nuevamente. Posteriormente se realizaron cortes de 1 um de espesor, se tiñeron con azul de toluidina y se observaron bajo microscopia de luz. Por último se hicieron cortes ultrafinos, los cuales fueron contrastados con acetato de uranilo por 15 minutos y citrato de plomo, por 10 minutos y fueron analizados y fotografiados, en un microscopio electrónico de transmisión Carl Zeiss EM 10 A.

Los tipos celulares adenohipofisarios fueron clasificados y caracterizados, tomando en cuenta los resultados obtenidos con la técnica de inmunoperoxidasa y el análisis ultraestructural. Una vez teniendo estos datos se realizó la correlación de cada uno de estos tipos celulares, con los estudios clínico-radiológicos de cada uno de los casos.

Por último se analizó la actividad secretora de los adenomas, su aspecto histológico y ultraestructural, con el fin de conocer su comportamiento biológico, enfocándose especialmente en su potencial invasor.

VI. RESULTADOS

1. Implementación de la técnica

La técnica inmunohistoquímica aplicada fue la de inmunoperoxidasa por el método de avidina - biotina. Se realizaron ensayos variando los tiempos de incubación de los tejidos tumorales y control, tanto en el peróxido de hidrógeno como en los anticuerpos primarios.

El tiempo original recomendado para la incubación en el peróxido de hidrógeno, era de 10 minutos, pero no fue suficiente para bloquear la peroxidasa endógena, principalmente en el tejido tumoral, ya que algunos presentaban vasos sanguíneos y hemorragia abundantes, por lo que fue modificada aplicandola en 2 cambios de 15 minutos cada una.

Las diluciones y los tiempos de incubación de los anticuerpos primarios, fueron modificados de 1:2000 por 30 minutos, a 1:200 por 60 minutos, ya que era una dilución muy alta y poco tiempo para que los anticuerpos primarios reconocieran los sitios de antigenicidad en las células.

Después de estas modificaciones, la técnica de la inmunoperoxidasa contra cada hormona hipofisiaria, mostró una identificación clara del contenido hormonal en el citoplasma de las células, la cual fue observada tanto en el control positivo (hipófisis humana normal), como en los adenomas que resultaron positivos para una o mas hormonas. Los falsos positivos y la reacción por peroxidasa endógena, fueron descartados con el control negativo, el cual al final de la técnica, no mostró reacción con el cromógeno (Fig. 9).

Los resultados obtenidos con la inmunoperoxidasa en cada caso, fueron reportados indicando de manera semicuantitativa, el grado de positividad observado para cada hormona, graduado de una a tres cruces. Después, estos reportes fueron entregados al archivo del hospital, para ser anexados a los expedientes de los pacientes.

2. Caracterización y clasificación de los tipos celulares

Los adenomas afectaron principalmente a la población de adultos jóvenes. Ambos sexos estuvieron representados en proporción similar: 53.3% de hombres con una media general de edad de 43.6 años y 46.7% de mujeres, con una media general de edad de 39.3 años. El tiempo de evolución tendió a ser mayor en los grados más altos. El 18% de los adenomas pertenecieron a los grados I y II, de acuerdo con la clasificación de Hardy (1973), el 27.9% al grado III y el 54.1% al grado IV (Tabla I; gráfica I).

Histológicamente todos los tumores, excepto 2, mostraron gran densidad celular, discreta anisonucleosis, núcleos densos con diámetro de 7 - 10 micrómetros y ausencia de figuras de mitosis y

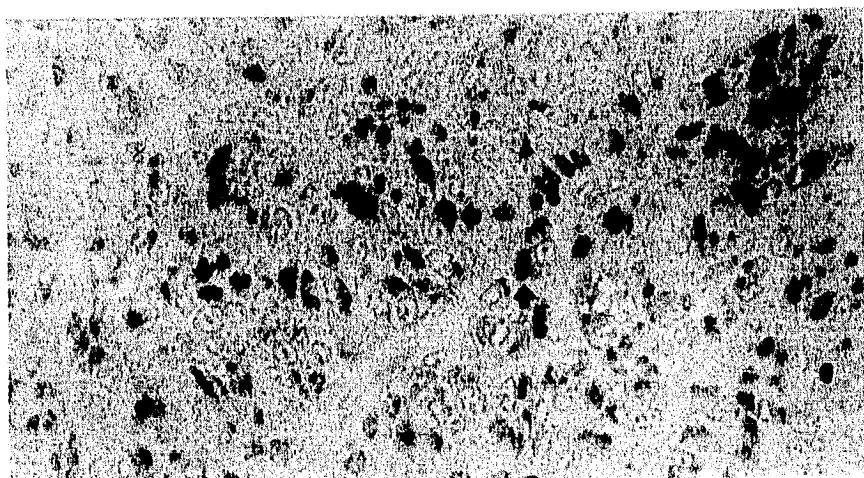


Figura 9. Adenoma hipofisiario procesado con la técnica de inmunoperoxidasa aplicando el anticuerpo contra la hormona prolactina. Con esta se puede observar la presencia de la hormona en el citoplasma celular (flechas), 1,200X.

áreas de necrosis (Fig. 10). En los dos casos mencionados, ambos prolactinomas del grado IV, uno de ellos con residiva tumoral (casos no. 34 y 36), se encontró anisonucleosis moderada, con contornos nucleares irregulares, presencia de pseudoinclusiones, algunas células bi o multinucleadas y algunas figuras de mitosis (fig. 11).

Con la inmunoperoxidasa se encontró que el tipo tumoral más numeroso fue el de los prolactinomas, con una incidencia de 45.1%, seguido de aquellos en los que no se detectó secreción hormonal (negativos) con un 21.3% y de los adenomas mixtos y plurihormonales con 16.34%. 4.1% correspondió a los de hormona de crecimiento, 9.0% a los de hormona estimulante del folículo, 1.6% a los de hormona luteinizante, al igual que la ACTH y 0.82% a los de hormona estimulante de la tiroides (gráfica II).

PROLACTINOMAS

El grupo de los prolactinomas lo formaron 55 casos, 31 mujeres con edad promedio de 35 años y 24 hombres con edad promedio de 38 años. De ellos, 8 pertenecieron al grado II en la clasificación de Hardy, 18 al grado III y 29 al grado IV (Tabla II). El cuadro clínico presentado por estos pacientes fué de: síndrome quiasmático, cefalea, galactorrea, amenorrea y en algunos casos acromegalia. Los niveles séricos de la hormona prolactina fueron variados, desde 26.5 ng/ml hasta 1,900 ng/ml, (niveles normales: de 0 a 25 ng/ml), presentandose los niveles mas altos en el grado IV.

Con la tinción de hematoxilina y eosina, 70% fueron cromóforos, 24% acidófilos y 4% basófilos. Ninguno de los tumores reaccionó con la técnica de reactivo de Schiff (PAS).

Ultraestructuralmente todos fueron escasamente granulados, mostrando células bien delimitadas, de forma poliédrica o alargada, con retículo endoplásmico rugoso dilatado y arreglado de forma lamelar o concéntrica, en ocasiones localizado perinuclearmente, complejo de Golgi bien desarrollado y mitocondrias poco numerosas. Los escasos gránulos de secreción fueron de diámetros variables según el grado del tumor. En el grado II este fue de 161.4 nm en promedio (con una variación de 123 nm a 216 nm), en el grado III de 263.7 nm, (152 nm a 482 nm) y el grado IV fue de 208 nm (129 nm a 321 nm). Algunos de ellos se localizaron entre las superficies laterales de las células vecinas, lejos de los capilares, lo que es llamado exocitosis errática y es el marcador morfológico de este tipo de adenomas. Otra característica observada en estos tumores, fue la presencia de acúmulos de amiloide, localizados en el citoplasma celular y ocasionalmente en el espacio intercelular. Los núcleos fueron de forma redondeada, en algunos casos ocupando un gran espacio en el citoplasma celular, con cromatina finamente dispersa y nucléolo conspicuo, electrón denso. Algunos de ellos presentaron pseudoinclusiones.

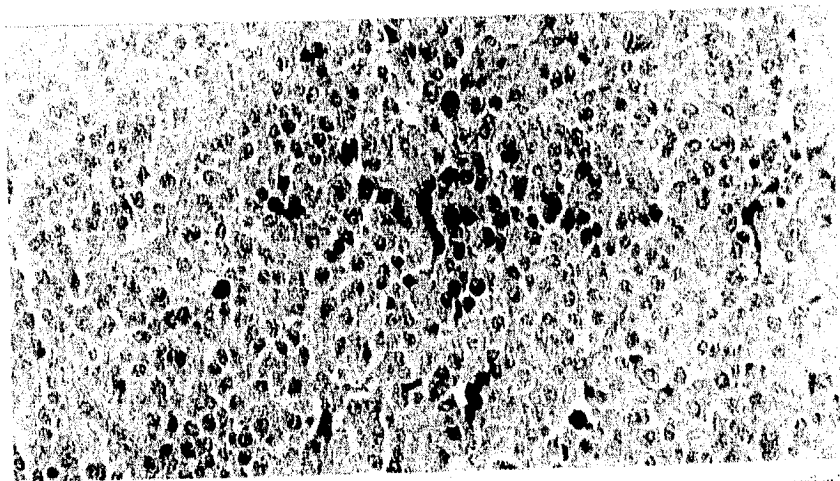


Figura 10. Adenoma densamente celular, formado por núcleos redondos y uniformes, sin atipias celulares, áreas de necrosis o figuras de mitosis. Hematoxilina y eosina, 1,120 X.

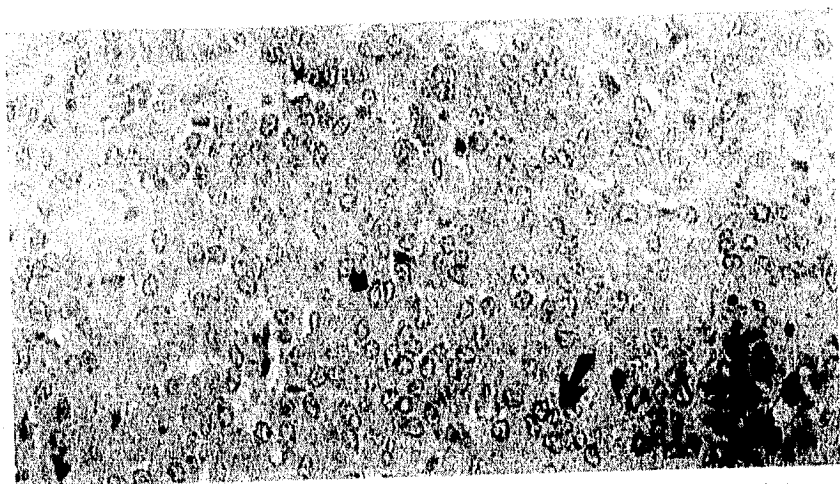


Figura 11. Adenoma con anisonucleosis moderada, núcleos de contornos irregulares (flecha grande) y presencia de pseudoinclusiones (flecha pequeña). Hematoxilina y eosina, 1,200 X.

Dos casos del grado II (casos no. 5 y 8), presentaron citoplasma poco desarrollado, con retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias escasas y núcleos de contornos irregulares. En el caso 8 además se observó acúmulos de retículo endoplásmico liso arreglado de forma lamelar y mitocondrias numerosas. A esto último se le conoce como cambios oncocíticos (fig. 12).

Además de las características antes mencionadas, en los adenomas del grado III se observaron células con membrana citoplásmica plegada, retículo endoplásmico rugoso lamelar de tramos cortos, abundantes ribosomas libres, gránulos de secreción pleomórficos, algunos fusionados y con un halo alrededor, los cuales se pudieron observar dentro de la región del Golgi. Los núcleos presentaron formas irregulares, formando indentaciones y pseudoinclusiones, con nucléolo poco prominente (fig. 13). En el grado IV, las células llegaron a presentar abundantes lisosomas con gránulos de secreción en su interior, lo cual recibe el nombre de crinofagia, centriolos ocasionales y retículo endoplásmico liso lamelar abundante. En algunas células, los gránulos de secreción se encontraron arreglados hacia la periferia celular. El complejo de Golgi fué menos abundante y los núcleos presentaron nucléolos de forma redonda, con poca cromatina perinucleolar asociada. En tres casos del grado IV (no. 35, 51 y 54), se observaron cambios oncocíticos. El caso no. 50 del grado IV C, presentó células de membrana citoplásmica electrón densa, con lisosomas abundantes, centriolos, grandes acúmulos de amiloide, con algunos gránulos de secreción pleomórficos en su interior. Estos acúmulos de amiloide llegaron a medir hasta 8.9 x 5.5 micras (fig. 14).

De todos los casos que formaron este tipo de tumor, 13 (24%) volvieron a crecer, 4 de estos del grado III y 9 del IV. 21 (38.1%) fueron tratados con bromocriptina antes de la cirugía, por un período que varió entre 2 meses y 3 años, 8 de los cuales fueron residivantes. Clínicamente en 17 de ellos, hubo reducción del tamaño del tumor, de los niveles séricos de prolactina y la restauración de la menstruación, se detuvo la galactorrea y regresó la fertilidad. Histológicamente, se observó un aumento moderado a intenso del tejido fibroconectivo entre las células tumorales y ultraestructuralmente, se redujo el volumen del retículo endoplásmico rugoso y del complejo de Golgi; los lisosomas aumentaron en número, mientras los gránulos secretores escasearon, observaciones hechas también por Yokoyama (1995).

Los cuatro casos restantes, no respondieron a la bromocriptina, de los cuales dos (casos no. 18 y 33, tabla II), correspondieron a adenomas recurrentes.

ADENOMAS SOMATOTROPOS

En este grupo se presentaron 5 casos. De ellos, 4 fueron hombres, con edad promedio de 37 años y una mujer de 35. Un caso fue de grado II, otro de grado III y 3 de grado IV (tabla III). Como cuadro clínico presentaron: síndrome quiasmático, cefalea, ame-

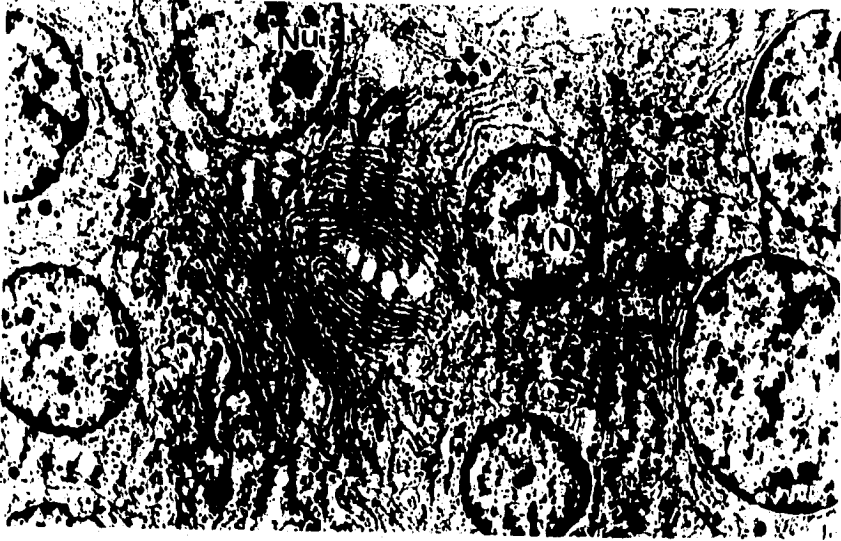


Figura 12. Micrografía electrónica de un prolactinoma de grado II con gránulos de secreción escasos (flechas), retículo endoplásmico rugoso abundante (flecha grande) y núcleos redondos (N) con nucleolo (Nu). Acetato de uranilo - citrato de plomo, 6,076 X.



Figura 13. Micrografías electrónicas de un prolactinoma de grado III. En A se observan células con retículo endoplásmico rugoso (Re), gránulos de secreción fusionados (flechas pequeñas) y dos gránulos en exocitosis errática (flecha grande), 9,750X; En B se muestra el plegamiento de la membrana celular (flecha), 9,750 X Acetato de uranilo - citrato de plomo.

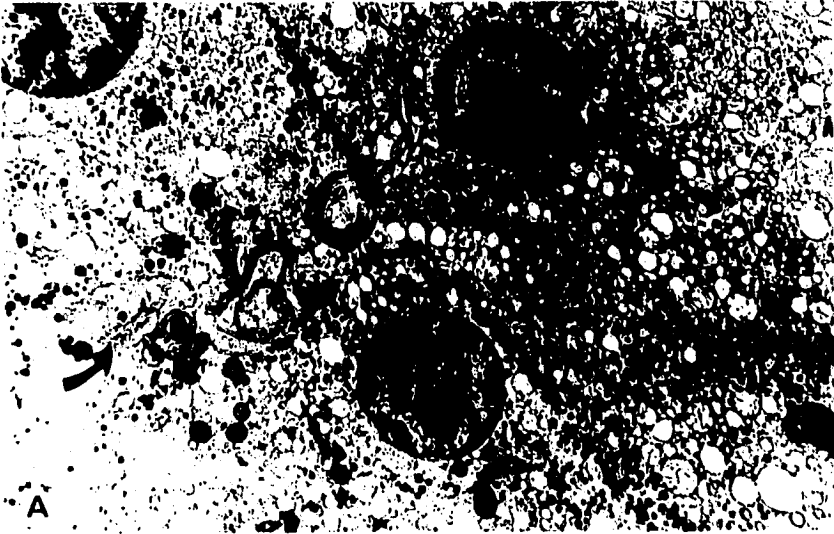


Figura 14. Micrografías electrónicas de un prolactinoma de grado IV. En A presenta células con acúmulos de retículo endoplásmico liso (flechas), 7,800 X; y en B se muestran abundantes lisosomas (L) y un acúmulo de amiloide (flecha), 3,900 X. Acetato de uranilo - citrato de plomo.

norrea, galactorrea y en dos casos acromegalia. El perfil hormonal de los pacientes fue normal en tres casos (no. 1, 4, 5), el caso dos con nivel de prolactina elevado y el 3 con hormona de crecimiento de 50 ng/ml (nivel normal; de 1 a 10 ng/ml). Estos tumores fueron acidófilos y negativos con la técnica de PAS.

Al microscopio electrónico, este tipo de tumor fue también escasamente granulado, cuyos gránulos de secreción tuvieron un diámetro de 221 nm en promedio, pudiendo alcanzar un tamaño hasta de 769 nm. Sus células presentaron forma poliédrica con retículo endoplásmico rugoso dilatado de tramos cortos, mitocondrias poco numerosas y complejo de Golgi de cisternas dilatadas. Se encontraron cuerpos fibrosos de filamentos tipo II, algunos de los cuales contenían en su interior gránulos de secreción y mitocondrias, estos constituyen el marcador morfológico de este tipo de tumor. Los núcleos mostraron forma redondeada u ovalada, con cromatina en pequeños acúmulos electrón densos y nucléolo excéntrico. Los casos 4 y 5, este último recurrente, presentaron transformación oncocítica, con retículo endoplásmico rugoso poco abundante, complejo de Golgi poco desarrollado, centriolos, lisosomas y núcleos de contornos irregulares con nucléolo pequeño. En estos no se observaron cuerpos fibrosos (fig. 15).

ADENOMAS GONADOTROFOS

En este tipo de tumor, se tuvieron 11 casos positivos para la hormona foliculo estimulante (FSH) y 2 para la hormona luteínica (LH).

En el grupo de los FSH (Tabla IV), 3 fueron del sexo femenino con una edad promedio de 51 años y 8 del sexo masculino con promedio de 53 años. Dos de ellos pertenecieron al grado II, uno al grado III y el resto al grado IV. Clínicamente presentaron cefalea, síndrome quiasmático, galactorrea y amenorrea. El perfil hormonal fué normal en cinco casos, en los otros, los niveles séricos de la FSH estuvieron elevados, tanto en los hombres como en las mujeres, llegando a alcanzar hasta los 40 mu/ml (niveles normales en los hombres: de 3 a 15 mu/ml; en las mujeres: de 3 a 17 mu/ml). En dos casos (no. 6 y 7), también se encontró elevado el nivel de la prolactina.

Ultraestructuralmente los adenomas en el sexo femenino, mostraron células de límites nítidos, de forma poliédrica, con citoplasma poco desarrollado, en el cual se pudieron observar lisosomas ocasionales, retículo endoplásmico rugoso escaso y dilatado, complejo de Golgi prominente de cisternas dilatadas. Los gránulos de secreción fueron escasos con un diámetro de 153 nm. Los núcleos presentaron contornos redondeados, algunos de formas irregulares y con pseudoinclusiones, nucléolos excéntricos asociados a cromatina perinucleolar electrón densa. Los dos casos de grado IV, además presentaron algunos perfiles de retículo endoplásmico liso, mezclados con mitocondrias y gránulos de secreción

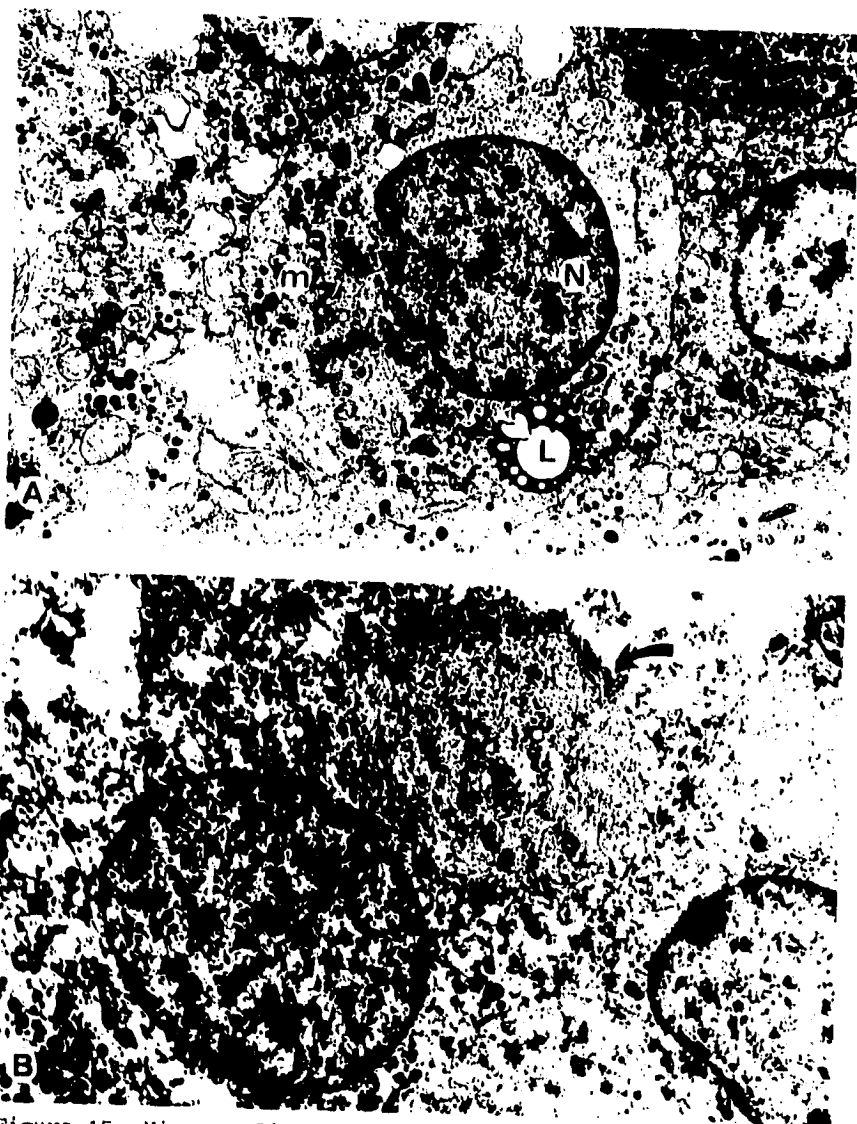


Figura 15. Micrografías electrónicas de un adenoma somatotrofo de grado IV escasamente granulado. En A, con núcleos redondeados (N), mitocondrias (m), lisosomas (L), 9,750 X; En B, con acúmulo de filamentos tipo II (flecha), 10,350 X. Acetato de uranilo - citrato de plomo.

pleomórficos. El tumor de grado III mostró transformación oncocítica y complejo de Golgi vacuolado, formando lo que es llamado, "complejo en panal de abeja". En este caso los gránulos de secreción llegaron a medir hasta 568 nm de diámetro (fig. 16).

Todos los casos de adenoma en el sexo masculino, presentaron células con transformación oncocítica, en cuyo citoplasma el retículo endoplásmico rugoso fue escaso, de tramos cortos y arreglado paralelamente, el complejo de Golgi estuvo bien desarrollado, centriolos ocasionales, núcleos de formas redondeadas o de contornos irregulares, con cromatina en acúmulos pequeños y nucléolo excéntrico. Los gránulos de secreción estuvieron localizados hacia la periferia celular, desplazados debido a la cantidad de mitocondrias.

La afinidad por la técnica de H-E de este tipo de tumor fue variada, presentandose los tres tipos, acidófilos, basófilos y cromófobos, así como reacción positiva a la tinción de PAS.

Con respecto a los dos casos de hormona luteínica, uno de ellos correspondió a una mujer de 38 años con un tumor de grado III y el segundo a un hombre de 46 años, con tumor de grado IV (Tabla V). Los síntomas presentados por éstos fueron, cefalea, síndrome quiasmático y galactorrea. El perfil hormonal fué normal en el primer caso y el segundo presentó nivel de hormona luteínica y prolactina elevada (niveles séricos normales de hormona luteínica: hombres de 3 a 25 mu/ml; mujeres de 5 a 25 mu/ml). Ambos tumores fueron acidófilos y con ligera positividad al PAS.

Su estructura fina fue de células de membrana plegada, redondeadas, con citoplasma bien desarrollado, en el que se pudo observar retículo endoplásmico rugoso abundante arreglado paralelamente, mitocondrias poco numerosas, complejo de Golgi abundante y dilatado, ribosomas libres, gránulos de secreción localizados hacia la periferia celular, con un diámetro de 183 nm. Los núcleos fueron redondos con cromatina fina y nucléolo pequeño, tendiendo a localizarse hacia la periferia nuclear unido por cromatina perinucleolar. También se observaron algunas células binucleoladas y lisosomas ocasionales (fig. 17).

ADENOMAS TIROTROFOS

Solamente se presentó un caso de este tipo, el cual correspondió a un hombre de 71 años, sin manifestaciones endócrinas ni cuadro clínico específico, ya que presentó síndrome quiasmático, cefalea y perfil hormonal normal (nivel sérico normal de la hormona estimulante de la tiroides: de 0.5 a 5 uu/ml). El tumor perteneció al grado II (Tabla VI) y fué cromófobo con ligera tinción de PAS.

En su estructura fina mostró células bien delimitadas con transformación oncocítica, gránulos de secreción escasos de 140 nm de

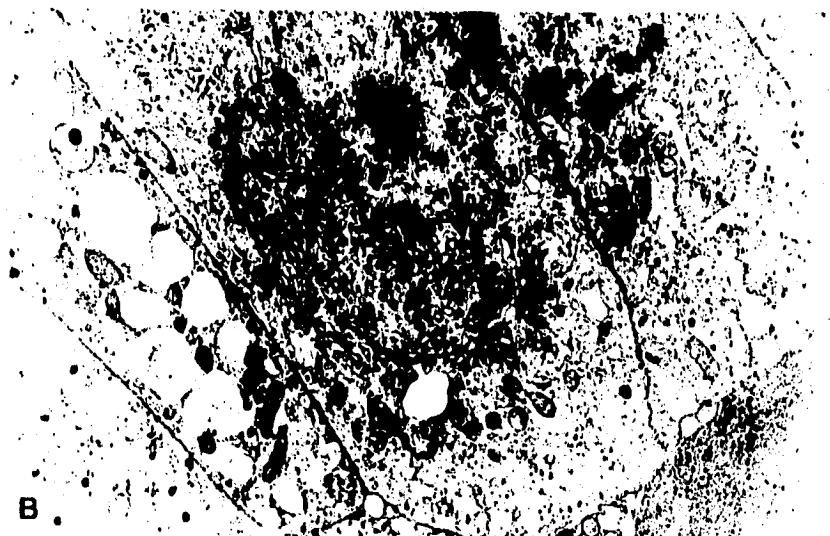


Figura 16. Micrografías electrónicas de un adenoma gonadotrofo de hormona folículo estimulante, de grado III C. A, con células bien delimitadas de núcleos redondeados (N) y gran cantidad de mitocondrias (m), 4,875 X. B, mostrando complejo de Golgi en panal de abejas (flechas), 15,600 X. Acetato de uranilo-citrato de plomo.



Figura 17. Micrografía electrónica de un adenoma gonadotrofo de hormona luteínica de grado III A. Este muestra células con membranas plegadas (flecha grande), complejo de Golgi abundante (G) y gránulos de secreción localizados hacia la periferia celular (flechas pequeñas). Acetato de uranilo-citrato de plomo 6,370 X.

diámetro, localizados preferentemente hacia la periferia celular, complejo de Golgi bien desarrollado, retículo endoplásmico rugoso y lisosomas escasos. Los núcleos mostraron formas redondeadas u ovaladas con nucléolos conspicuos de estructura fina (fig. 18).

ADENOMAS CORTICOTROFOS

Este grupo lo formaron 2 casos de grado III, ambos mujeres con edad promedio de 49 años, quienes manifestaron síndrome quiasmático y cefalea. Una de ellas mostró niveles elevados de hormona estimulante de la tiroides, hormona estimulante del folículo y prolactina, y la otra solamente de cortisol (niveles séricos normales de cortisol matutino: de 5 a 250 ng/ml). Los dos tumores fueron cromóforos con ligera tinción de PAS (Tabla VII).

Al microscopio electrónico presentaron células poliédricas, con límites celulares nítidos bien marcados y electrón densos, con un citoplasma poco desarrollado, el cual en el caso 1, tuvo filamentos de tipo I, en donde se encontraron atrapados gránulos de secreción, mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso. El resto de los gránulos de secreción se encontraron desplazados hacia la periferia celular, debido a el acúmulo de los filamentos; estos presentaron un diámetro de 104 nm en promedio. Los núcleos fueron alargados de cromatina electrón densa y nucléolo excéntrico. Algunos núcleos mostraron contornos irregulares. En el caso 2 además se observó complejo de Golgi conspicuo, engrosamiento de la membrana celular y algunas células con transformación oncocítica (fig. 19).

ADENOMAS MIXTOS

Prolactina - Hormona de crecimiento

Este tipo está formado por 10 casos, 5 mujeres con edad promedio de 40 años y 5 hombres con edad promedio de 31 años. Un caso de grado I, uno del II, 3 del III y 5 del IV. Clínicamente presentaron cefalea, síndrome quiasmático, galactorrea, amenorrea, acromegalia y gigantismo. En el perfil hormonal presentaron niveles elevados tanto de hormona de crecimiento como de prolactina (Tabla VIII).

Todos los casos excepto uno, fueron acidófilos y ninguno mostró reacción a la técnica de ácido periódico de Schiff.

Ultraestructuralmente solamente un caso fue densamente granulado, el cual perteneció al grado I. Este presentó células con límites celulares poco distinguibles, retículo endoplásmico rugoso muy dilatado, complejo de Golgi difícilmente distinguible y acúmulos característicos de filamentos tipo 2, núcleos redondos, con nucléolo pequeño, con cromatina en acúmulos electrón densos. Los gránulos de secreción presentaron un diámetro de 431 nm en promedio.

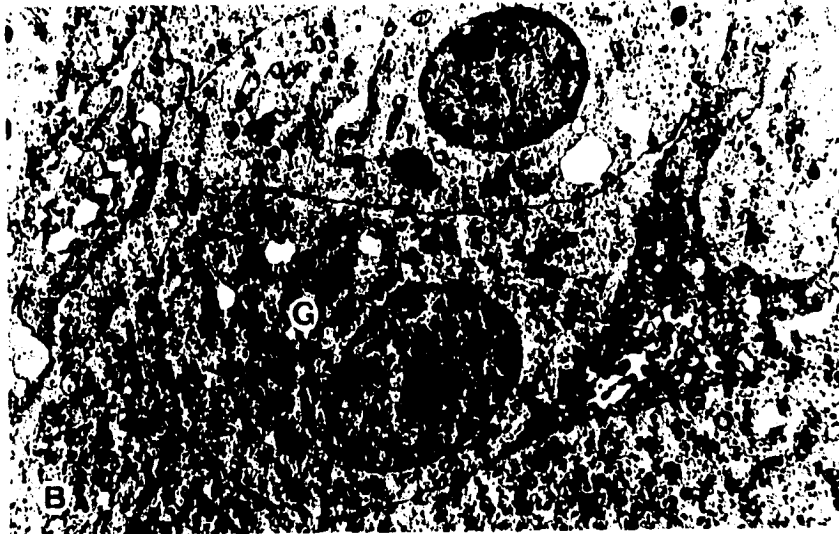
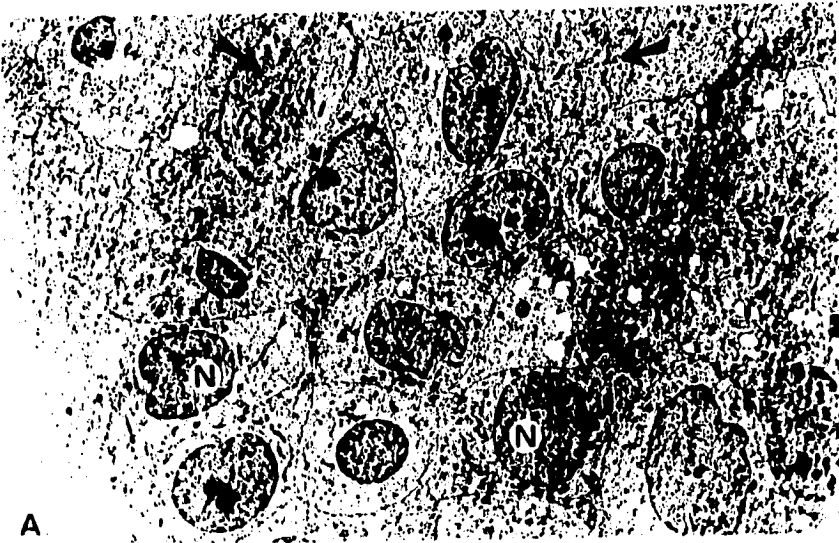


Figura 18. Micrografías electrónicas de un adenoma tirotrofo de grado II. A, con células bien delimitadas con mitocondrias abundantes (flechas grandes), núcleos redondos (N) y nucleolos conspicuos (flechas pequeñas), 3,315 X. B, complejo de Golgi bien desarrollado (G) y gránulos de secreción pequeños y escasos (flecha), 7,800 X. Acetato de uranilo - citrato de plomo.

Los casos restantes fueron escasamente granulados, formados por células con retículo endoplásmico rugoso arreglado paralelamente o concéntrico, mitocondrias poco numerosas y cuerpos fibrosos con gránulos de secreción y mitocondrias en su interior. Los núcleos presentaron formas circulares o alargadas en media luna, en cuya parte cóncava se localizaron los cuerpos fibrosos. Estos presentaron cromatina en acúmulos electrón densos y nucléolos prominentes. Uno de los casos presentó intensa proliferación de filamentos, los cuales llegaron a ocupar todo el citoplasma celular, provocando una atrofia celular importante. Los gránulos de secreción tuvieron un diámetro de 178 nm en promedio (fig. 20).

Prolactina - hormona estimulante de la tiroides

Este grupo estuvo constituido por 4 casos. Uno del sexo femenino con 23 años de edad, el cual perteneció al grado II y se manifestó clínicamente con síndrome quiasmático, cefalea, amenorrea y galactorrea, así como con niveles séricos elevados de hormona luteínica y prolactina. Los tres casos restantes del sexo masculino, pertenecieron a los grados III y IV con una edad promedio de 33 años. Clínicamente presentaron síndrome quiasmático y cefalea. Uno de ellos tuvo perfil hormonal normal y recurrencia tumoral, otro con nivel elevado de cortisol y el último con prolactina elevada y hormona tirótrofa en el límite normal superior (Tabla IX).

Histológicamente presentaron afinidad acidófila unos y cromófoba otros, con ligera positividad con la tinción de PAS.

Las características ultraestructurales del adenoma de grado II, fueron semejantes a un prolactinoma escasamente granulado, con gránulos de secreción de 178 nm de diámetro y algunos en exocitosis errática, retículo endoplásmico rugoso abundante arreglado en forma lamelar, núcleos circulares con cromatina en acúmulos electrón densos y nucléolo prominente. Los de los grados III y IV, presentaron células bien delimitadas con largos procesos celulares, citoplasma poco desarrollado con transformación oncótica, retículo endoplásmico rugoso ausente, complejo de Golgi escaso, pocos gránulos de secreción de 114 nm de diámetro y núcleos redondeados o alargados de cromatina fina (fig. 21).

Prolactina - ACTH

Este grupo lo formaron dos casos: un hombre de 68 años de edad con síndrome quiasmático como único síntoma, cuyo tumor fue de grado II, tuvo afinidad basófila y no reaccionó a la tinción de PAS. El segundo fue de una mujer de 60 años de edad con cefalea y nivel elevado de cortisol, con un adenoma de grado IV, el cual fue acidófilo sin reacción a la técnica de PAS (Tabla X).

Ambos tumores presentaron al microscopio electrónico, células con transformación oncótica, retículo endoplásmico rugoso escaso, lisosomas grandes, núcleo redondeado con cromatina en acúmulos

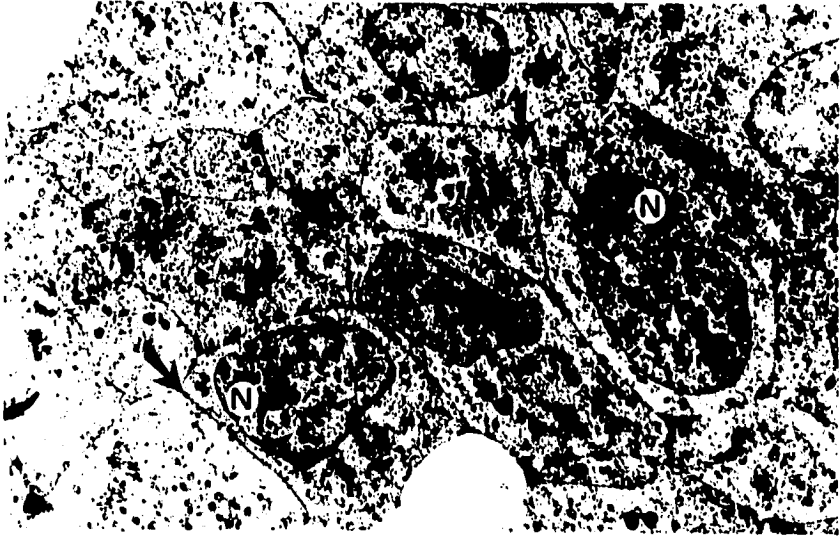


Figura 19. Micrografía electrónica de un adenoma corticotrofo de grado III A, con límites celulares electrón densos (flechas) y núcleos alargados de contornos irregulares (N). Acetato de uranilo citrato de plomo, 6,370 X.

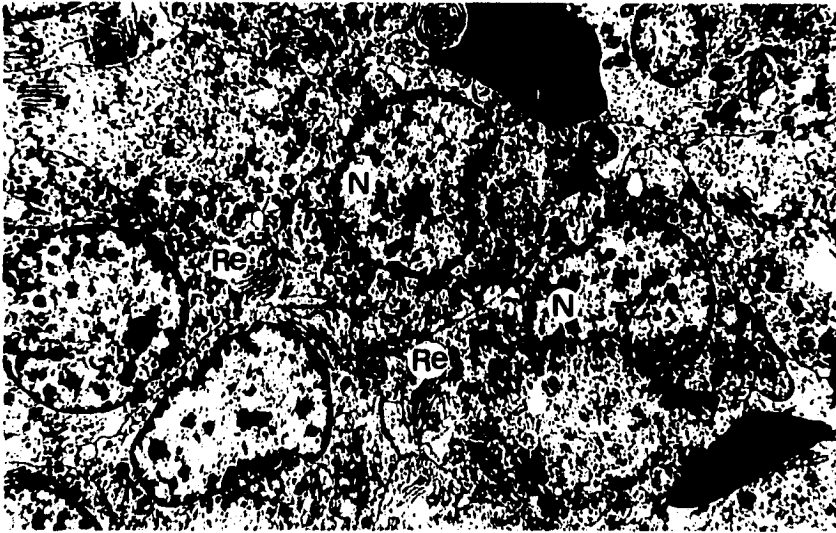


Figura 20. Micrografía electrónica de un adenoma de prolactina - hormona de crecimiento, de grado III A. Este muestra retículo endoplásmico rugoso en cisternas paralelas (Re), núcleos en media luna (N) y acúmulos fibrosos con gránulos de secreción en su interior (flechas). Acetato de uranilo-citrato de plomo, 5,137 X.

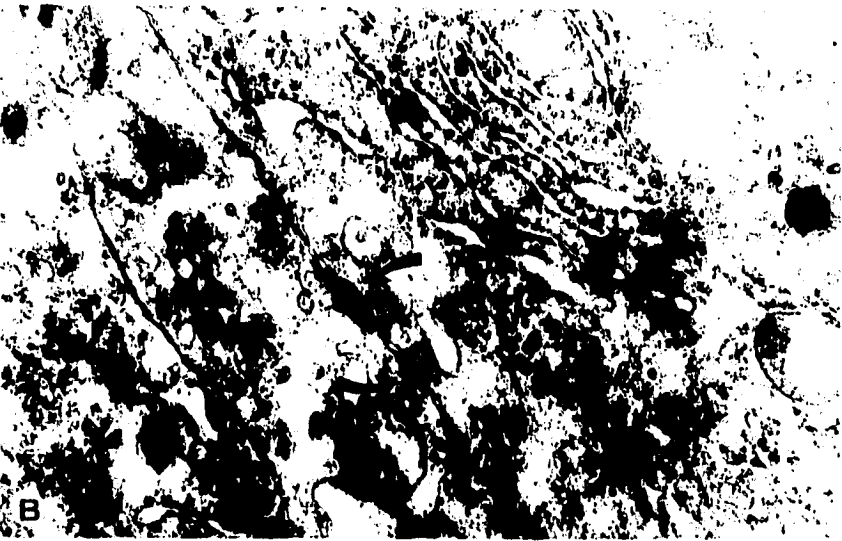


Figura 21. Micrografías electrónicas de un adenoma de prolactina - hormona estimulante de la tiroides, de grado II. A, muestra retículo endoplásmico lamelar (Re), núcleos redondeados (n) con nucleolo prominente (flecha), 7,800 X. B. gránulos de secreción en exocitosis errática (flechas), 31,200 X. Acetato de uranilo citrato de plomo.

pequeños y electrón densos. En algunas células se observó la presencia de uniones intercelulares. Los gránulos de secreción fueron escasos y pleomórficos, con un diámetro de 150 nm (fig. 22).

Prolactina - LH.

Este tipo lo representó un caso de grado I. Correspondió a una mujer de 33 años de edad, con síntomas de galactorrea, amenorrea y niveles elevados de prolactina y hormona de crecimiento. Las células fueron acidófilas con ligera tinción de PAS (Tabla XI).

Ultraestructuralmente estuvo compuesto por 2 tipos celulares, uno de ellos con células bien delimitadas con mitocondrias poco numerosas, retículo endoplásmico rugoso ausente, complejo de Golgi escaso y pequeño, lisosomas ocasionales y gránulos de secreción escasos con un diámetro de 91 nm. Los núcleos tuvieron contornos irregulares, cromatina en acúmulos electrón densos y nucléolo prominente. El otro tipo, estuvo compuesto por células con gránulos de secreción abundantes con un diámetro de 434 nm. Los límites celulares fueron difícilmente distinguibles, al igual que el retículo endoplásmico rugoso y el complejo de Golgi, debido a la gran cantidad de gránulos de secreción. Las mitocondrias fueron poco numerosas, los núcleos redondeados con acúmulos electrón densos de cromatina y nucléolo prominente unido a la membrana nuclear por la cromatina perinucleolar (fig. 23).

Hormona folículo estimulante - Hormona luteinizante.

De este tipo de adenoma se presentaron dos casos, ambos con tinción acidófila y con reacción positiva al PAS. Uno de ellos fue de grado II, el cual perteneció a un hombre de 48 años de edad con síndrome quiasmático, cefalea y nivel elevado de FSH (Tabla XII). Sus características ultraestructurales fueron semejantes a un adenoma gonadótrofo productor de hormona folículo estimulante. En su citoplasma se observó transformación oncocítica y complejo de Golgi en panal de abejas, esta última característica sólo ha sido reportada en el sexo femenino, en este tipo de tumores. El otro caso fue de una mujer de 35 años, con un tumor de grado IV B y cuadro clínico de síndrome quiasmático, cefalea, galactorrea, amenorrea y nivel elevado de hormona luteinizante. Este se caracterizó por presentar células de límites poco nítidos, citoplasma poco desarrollado con retículo endoplásmico rugoso escaso, complejo de Golgi pequeño y gránulos de secreción escasos de 123 nm de diámetro, algunos de los cuales se encontraron en degradación dentro de lisosomas. Sus núcleos fueron redondeados con cromatina finamente dispersa y nucleolo prominente (fig. 24).

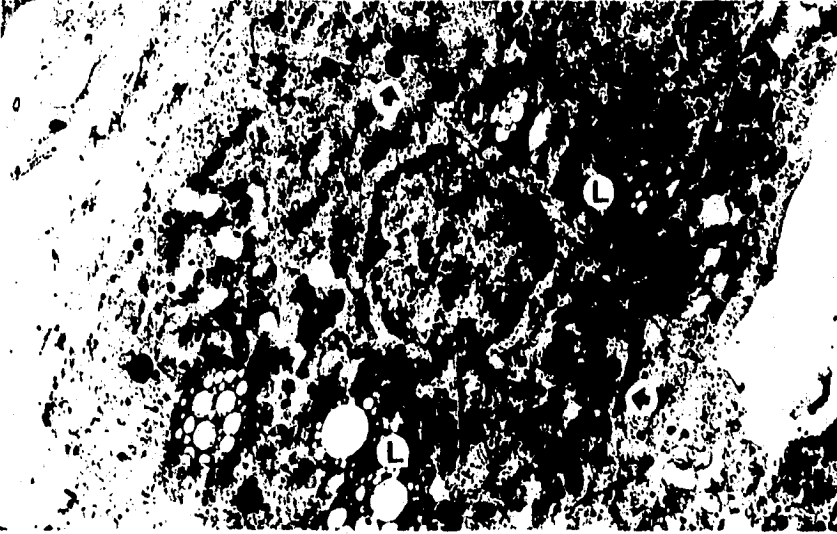


Figura 22. Micrografía electrónica de un adenoma de prolactina - ACTH, de grado IV B. Presenta células con mitocondrias abundantes (flechas pequeñas), escaso retículo endoplásmico (flecha grande) y lisosomas (L). Acetato de uranilo citrato de plomo, 7,840 X.

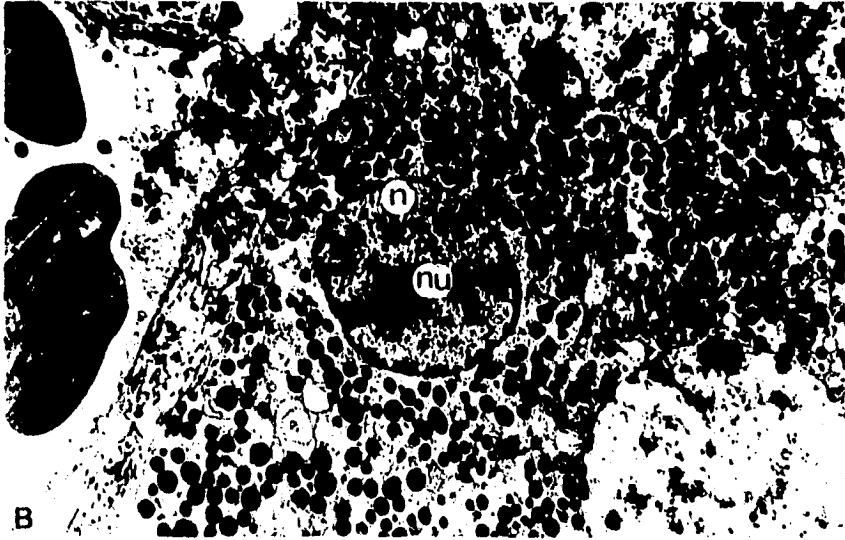


Figura 23. Micrografías electrónicas de un adenoma de prolactina - LH, de grado I, con dos tipos celulares. A, células escasamente granuladas, complejo de Golgi pequeño (flecha), lisosomas (L), 12,480 X. B, células con abundantes gránulos de secreción, núcleos redondeados (n) y nucleolo prominente (nu), 7,800X. Acetato de uranilo citrato de plomo.

Hormona de crecimiento - hormona folículo estimulante - hormona estimulante de la tiroides

Este adenoma plurihormonal de grado III A, se presentó en una mujer de 35 años, con manifestaciones clínicas de cefalea, acromegalia y alteración endócrina de hormona folículo estimulante y de crecimiento (Tabla XIII). Con la técnica de hematoxilina y eosina fué acidófilo y positivo con la tinción de PAS. De este tumor no se tuvieron observaciones ultraestructurales, debido a que el material no fué adecuado para ello.

Negativos

En éste tipo de adenomas no se detectó acumulación hormonal en el citoplasma de las células con la técnica de inmunoperoxidasa. Dentro de éste se presentaron dos grupos diferentes, el primero lo conformaron aquellos casos en donde los pacientes presentaron alteraciones clínicas y / o bioquímicas y el segundo sin alteraciones bioquímicas (perfil hormonal normal) y con manifestaciones clínicas no específicas (Tabla XIV y XV).

En el primer grupo (Tabla XIV) se encontraron los siguientes adenomas:

Siete prolactinomas: 3 hombres y 4 mujeres con edad promedio de 46 y 37 años respectivamente. Uno fue de grado III y el resto de grado IV, con características cromóforas y sin reacción a la tinción de PAS. Clínicamente se manifestaron con síndrome quiasmático, cefalea, galactorrea, amenorrea y niveles elevados de prolactina desde 29 ng/ml hasta 1000 ng/ml en los grados más altos. Un caso dentro de este grupo presentó recurrencia tumoral. Al microscopio electrónico presentaron características desde poco diferenciados, en aquellos tumores con niveles séricos de prolactina bajos, con citoplasma poco desarrollado, retículo endoplásmico rugoso escaso, mitocondrias poco numerosas, gránulos de secreción escasos con diámetro promedio de 133 nm y núcleos redondos con cromatina finamente dispersa. Los más diferenciados con niveles séricos de prolactina de 500 a 1000 ng/ml, mostraron células con retículo endoplásmico rugoso abundante, arreglado en forma lamelar, acúmulos de amiloide, mitocondrias poco numerosas, gránulos de secreción escasos con un diámetro medio de 304 nm, núcleos redondeados, algunos de contornos irregulares, con cromatina en grumos electrón densos y nucléolo conspicuo (fig. 25). Un caso fue secretor de hormona de crecimiento, con grado III (no. 5) y recurrencia tumoral, de un hombre de 42 años de edad, con cefalea, acromegalia y nivel elevado de hormona de crecimiento, acidófilo y sin reacción a la tinción de PAS. Ultraestructuralmente presentó transformación oncocítica, gránulos de secreción escasos con diámetro medio de 161 nm, citoplasma poco desarrollado sin acúmulos fibrosos, lisosomas pequeños y escasos, núcleos redondeados de cromatina fina y nucléolos pequeños. Dos tumores gonadótropos (casos no. 3 y 11), uno de ellos recurrenente, de dos hombres con edad promedio de 46 años con síndrome



Figura 24. Micrografía electrónica de un adenoma de hormona foliculo estimulante - hormona luteinizante, de grado IV B. Se muestran células de citoplasma poco desarrollado, escasamente granulado, de núcleos redondeados (n), nucleolo prominente (nu) y grandes lisosomas con gránulos de secreción en su interior (flecha). Acetato de uranilo - citrato de plomo, 6,370 X.

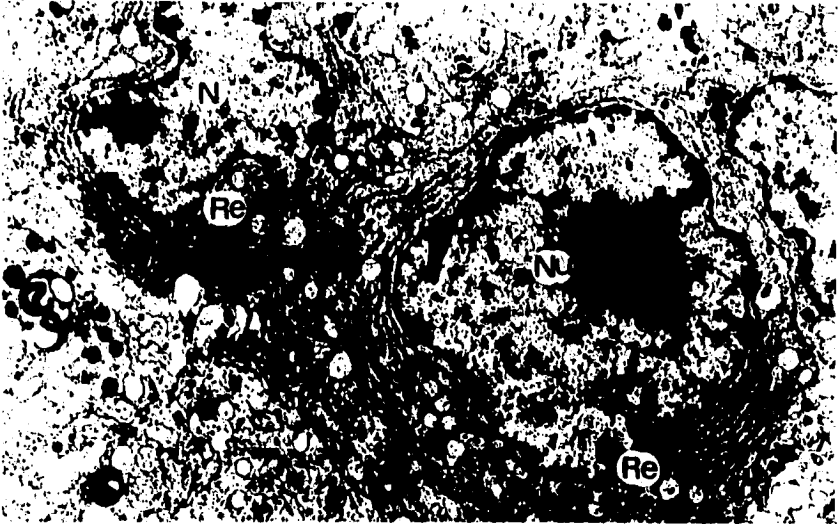


Figura 25. Micrografía electrónica de un adenoma inmunonegativo: Prolactinoma de grado IV B. Se observan células con reticulo endoplásmico rugoso abundante (Re), núcleos de contornos irregulares (N) con nucleolo conspicuo (Nu). Acetato de uranilo - citrato de plomo, 9,750 X.

quiasmático y cefalea. Uno cromóforo de grado III y otro basófilo de grado IV, ambos con niveles elevados de hormona estimulante del folículo y sin reacción al PAS. Sus células fueron de límites nítidos, poliédricas a alargadas, con retículo endoplásmico rugoso escaso y dilatado, mitocondrias poco numerosas, Golgi bien desarrollado, gránulos de secreción escasos de 186 nm de diámetro medio, núcleos redondeados con cromatina fina y nucléolos excéntricos de centro claro.

Un caso de tumor productor de hormona estimulante de la tiroides (caso no.8), perteneció a un hombre de 70 años de edad con síndrome quiasmático, cefalea y nivel sérico elevado de esta hormona. El adenoma fué de grado IV, cromóforo sin reacción al PAS. Al microscopio electrónico mostró células de citoplasma poco desarrollado, retículo endoplásmico arreglado paralelamente, ribosomas libres, complejo de Golgi poco prominente, núcleos redondeados con cromatina fina. Los gránulos de secreción fueron escasos de 115 nm de diámetro.

Dos tumores adrenocorticotrofos (casos no. 1 y 2), uno de grado II y otro de grado III, de dos hombres con edad promedio de 29 años, ambos con síndrome quiasmático y cefalea, el primero con síndrome de Cushing y perfil hormonal normal, el cual era recurrente y el otro con nivel sérico elevado de hormona adrenocorticotrofina. Ultraestructuralmente el primero mostró células bien delimitadas, alargadas o angulares, con uniones intercelulares densas, retículo endoplásmico rugoso escaso, de cisternas cortas, complejo de Golgi pequeño y escaso, mitocondrias pequeñas y poco numerosas y gránulos de secreción escasos de 147 nm de diámetro, a los que se les podía distinguir la membrana que los limitaba. El núcleo mostró forma irregular con indentaciones, con cromatina en acúmulos pequeños electrón densos. Algunas células presentaron hasta dos núcleos. El segundo estuvo formado por células alargadas con citoplasma poco desarrollado, cuya principal característica fue la presencia de acúmulos de filamentos tipo I, escasas mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso escaso. Los gránulos de secreción presentaron un diámetro medio de 201 nm, los cuales fueron circulares o en forma de gota (fig. 26).

Un adenoma acidófilo de células primitivas de grado IV C (caso no. 11), se presentó en una mujer de 55 años de edad con un cuadro clínico de cefalea, acromegalia y niveles séricos elevados de prolactina y hormona de crecimiento. Fué un tumor acidófilo sin reactividad a la tinción de PAS. Este presentó células alargadas de citoplasma pobremente desarrollado, con retículo endoplásmico rugoso escaso, complejo de Golgi pequeño, gránulos de secreción de 177 nm de diámetro medio y transformación oncocítica, en donde las mitocondrias mostraron forma alargada y estructura claramente distinguible. Algunas de ellas presentaron alteraciones, volviéndose redondas con un contenido granular fino. Sus núcleos fueron redondeados de cromatina fina y nucléolos pequeños (fig. 27).

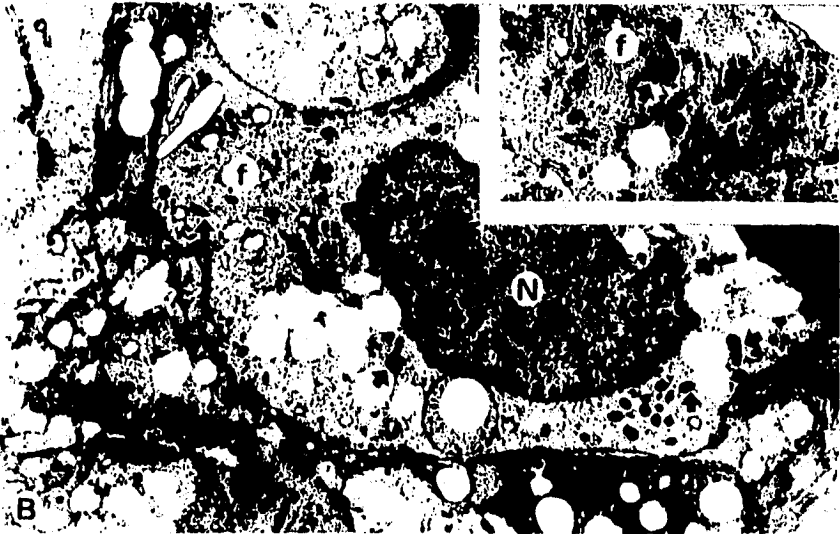


Figura 26. Micrografías electrónicas de un adenoma inmunonegativo: Adrenocorticotrofos. A, de grado II con células de uniones intercelulares densas (flecha grande), gránulos de secreción (flechas pequeñas) y núcleos de contornos irregulares (N), 15,600 X. B, de grado III A, mostrando células con núcleos de contornos irregulares (N), gránulos de secreción en forma de gota (flechas) y acúmulo de filamentos tipo I en el citoplasma celular (f), 9,750 X, incerto 8,750 X. Acetato de uranilo - citrato de plomo.

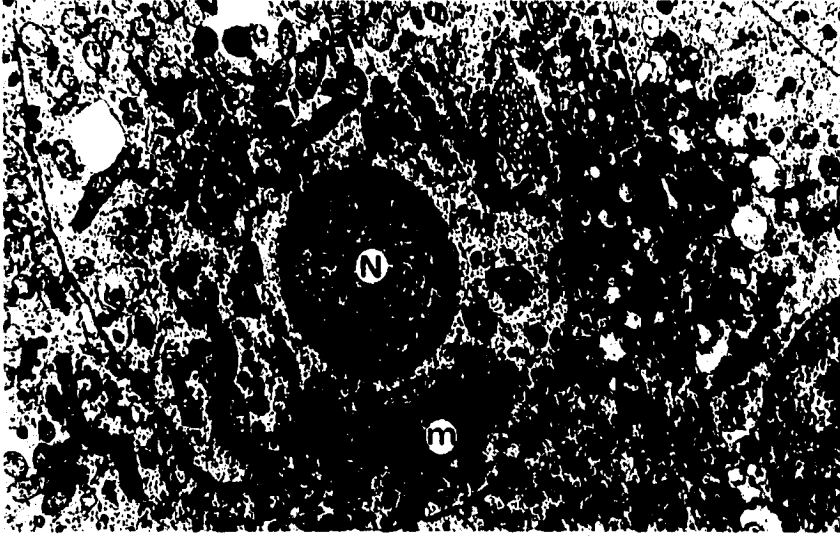


Figura 27. Micrografía electrónica de un adenoma inmunonegativo: acidófilo de células primitivas de grado IV C. Este mostró células con citoplasma poco desarrollado, escasos gránulos de secreción (flechas), núcleos redondeados (N) y mitocondrias abundantes (m). Acetato de uranilo-citrato de plomo, 9,900 X.

El segundo grupo lo constituyeron 12 adenomas no funcionantes: tres adenomas de células nulas (casos no. 4, 6 y 7) y nueve oncocitomas (Tabla XV).

El adenoma de células nulas lo presentaron una mujer de 75 años de edad con un tumor de grado III B, acidófilo y con ligera tinción con la técnica de PAS y dos hombres con una edad promedio de 54 años, ambos con grado IV B y sin reacción con la técnica de PAS, uno con característica acidófila y otro cromófoba. Este tipo de tumor se caracterizó por presentar células ligeramente alargadas y angulares, con citoplasma pobremente desarrollado, en el que se encontró retículo endoplásmico rugoso arreglado paralelamente, mitocondrias poco numerosas, complejo de Golgi escaso, centriolos ocasionales y gránulos de secreción con un diámetro medio de 229 nm. Los núcleos presentaron formas redondeadas o alargadas en el grado III B y con bordes irregulares e indentados en el IV B, con cromatina finamente dispersada, en acúmulos pequeños electrón densos y nucléolos redondos poco compactos de densidad variable.

El oncocitoma afectó a tres mujeres con una edad promedio de 58 años y seis hombres de 57 años de edad en promedio. De ellos tres fueron del grado II, de los cuales dos fueron recurrentes, uno del grado III C, uno del IV B y cuatro del IV C. Todos tuvieron característica acidófila sin tinción con la técnica de PAS. Ultraestructuralmente estas células tendieron a ser alargadas y angulares, con numerosas mitocondrias en su citoplasma, el retículo endoplásmico rugoso fué escaso, sin arreglo característico, pudiendo estar acomodado en cisternas paralelas cortas o totalmente desorganizado. En los tumores de grado II el complejo de Golgi fue alargado de sáculos delgados y en el grado III y IV presentó sáculos dilatados con transformación vacuolar y arreglo circular o concéntrico. Los gránulos de secreción fueron escasos con un diámetro de 118 nm. Estos estuvieron desplazados hacia la periferia celular debido a la cantidad de mitocondrias y algunos se llegaron a observar en la región del complejo de Golgi, los cuales presentaron un diámetro de 252 nm en promedio. También presentaron lisosomas con gránulos de secreción en su interior (crinofagia), centriolos ocasionales, núcleos de formas redondeadas o alargadas con contornos irregulares e indentaciones, con pseudoinclusiones, cromatina de estructura fina en pequeños acúmulos electrón densos y algunos con nucléolo prominente (fig. 28).

Las gráficas y las tablas que resumen los datos clínicos y de laboratorio de todos los pacientes estudiados, se encuentran en la sección correspondiente.

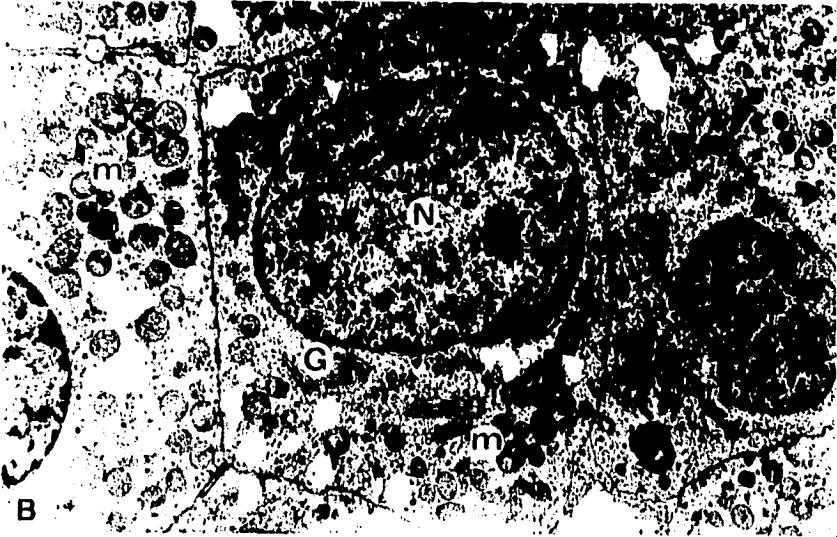
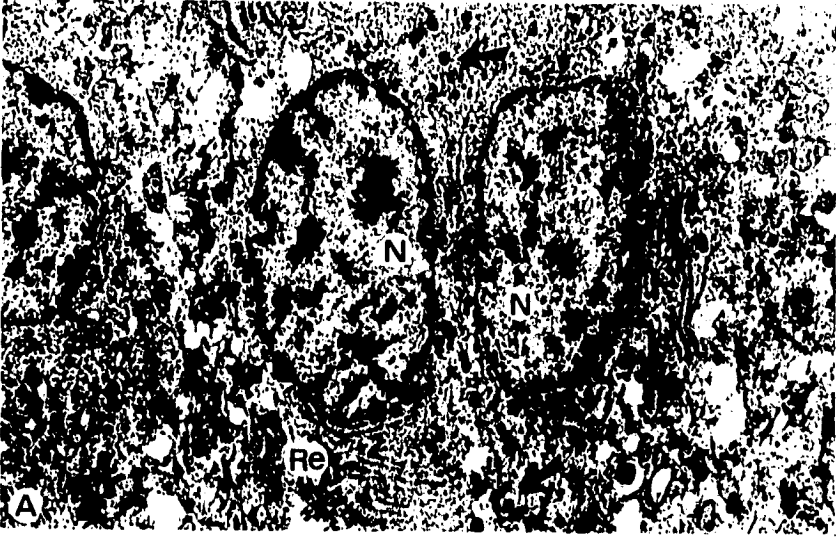


Figura 28. Micrografías electrónicas de adenomas inmunonegativos no funcionantes: A, de células nulas de grado IV B. Se observaron células con retículo endoplásmico rugoso (Re), gránulos de secreción escasos (flechas) y núcleo alargado (N), 7,800 X. B, oncocitoma de grado II, de células con mitocondrias abundantes (m) complejo de Golgi pequeño (G) y núcleos redondeados de contornos irregulares (N), 9,750 X. Acetato de uranilo - citrato de plomo.

VII. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En la presente serie, el cuadro clínico de los pacientes y su perfil hormonal se correlacionaron con los resultados obtenidos en la inmunoperoxidasa y microscopía electrónica, en los casos de prolactinomas, hormona de crecimiento, prolactina - hormona de crecimiento y gonadotrofos, quienes presentaron en general un cuadro clínico bien definido con síndrome quiasmático, cefalea, amenorrea, galactorrea, acromegalia o gigantismo y/o niveles elevados de las hormonas correspondientes.

Los tipos de adenomas restantes no mostraron esta correlación, especialmente los casos sin manifestaciones endocrinológicas ni clínicas específicas, como son los negativos no funcionantes (Tabla XV), los cuales presentaron perfil hormonal normal y como cuadro clínico, síndrome quiasmático, cefalea y un caso con amenorrea.

Los adenomas pueden manifestarse clínicamente con un cuadro de acromegalia, pero sin presentar elevación de los niveles séricos de la hormona de crecimiento. Pagesy (1990) plantea que la síntesis de somatostatina puede jugar un papel inhibitorio en la expresión de la hormona de crecimiento, ya que él observó que ésta puede estar elevada en este tipo de tumores. Por otro lado Nagaya (1990) reportó la expresión del gen de la prolactina, en adenomas que son secretores de hormona de crecimiento.

No todos los casos que presentan elevación de los niveles hormonales, muestran positividad en la inmunohistoquímica contra aquellas hormonas, como en los negativos (Tabla XIV). En este tipo de tumores la identificación de los marcadores ultraestructurales, como son los organelos y los marcadores especiales (agregados filamentosos, morfología de los gránulos de secreción), reportados por Horvath (1994), son importantes para llegar al diagnóstico.

Esto muestra que los niveles séricos hormonales y el cuadro clínico, no necesariamente indican el tipo de tumor del que se trata, como también lo demostraron Ho y Lui (1992). Ellos estudiaron 130 adenomas de los cuales el 31% fueron prolactinomas y observaron que los síntomas clínicos no ayudaron a distinguir a estos de los no prolactinomas, indicando que los niveles séricos de prolactina son un punto de partida útil para distinguirlos, pero no puede separar muchos de los tumores multihormonales de los adenomas no prolactinomas, lo cual indica que la inmunohistoquímica es específica y confiable en la identificación de prolactinomas. De ahí la importancia que tiene la aplicación de la inmunohistoquímica y la microscopía electrónica en el análisis de éstos tumores, para su clasificación y caracterización.

El tiempo de evolución en nuestra casuística no fue proporcional al grado de infiltración del tumor, sin embargo, tendió a ser

mayor en los grados más altos (Tabla I). Esto puede ser debido a la falta de información precisa por parte del paciente y también por la diversidad biológica con la que se manifiestan, ya que algunos de los síntomas como la amenorrea, llevan a la consulta más pronto que otros, como es el cambio de las facciones o el aumento de las dimensiones de las extremidades que ocurre con la acromegalia.

No se encontró relación entre el tiempo de evolución y algún tipo de tumor.

Más de la mitad de los adenomas, 54.1%, perteneció al grado IV en la escala de Hardy. Esto indica que los pacientes buscaron atención médica en fase francamente invasora. Este dato contrasta con series anteriores, en las que menos del 25% y hasta un 41.9% de los casos se encontraron en la misma situación (Crocker, 1978; Sautner, 1991). Esto puede ser debido a que el sector de la población que acude al Instituto, se habitúa a soportar los síntomas de la enfermedad por largo tiempo, e inclusive a que busca terapias alternativas antes de acudir a los servicios de salud. Todo esto aunado a la falta de educación médica que les permita acudir tempranamente y a sus factores socioeconómicos.

El 98.4% fueron macroadenomas, en comparación con el 73.7% reportado por Scherthauer (1986), quien además mostró que los adenomas gonadotrofos (FSH y LH), los tirotrofos y los adrenocorticotrofos silenciosos tipo II, fueron 100% macroadenomas. En esta serie con excepción de los mixtos (HC - Prl) y los plurihormonales, quienes presentaron 90% y 86% de macroadenomas respectivamente, todos fueron 100% macroadenomas.

La expansión local de los adenomas puede causar síntomas no específicos, incluyendo insuficiencia hormonal por compresión de la glándula remanente, que puede existir por años antes del diagnóstico y la sobresecreción de las hormonas, que puede también permanecer irreconocible y dar problemas de difícil diagnóstico (Gómez, 1995).

La incidencia de los adenomas no secretores fue del 25%, que es semejante a lo reportado por Delgrane (1993) y Konyogeorgos (1991).

No se encontró que algún tipo de adenoma, clasificado de acuerdo a la reacción en la inmunohistoquímica, pudiera tener un comportamiento más agresivo que los demás, es decir, ningún tipo de adenoma perteneció a un grado de malignidad en especial.

Esto esta de acuerdo con lo reportado por Sautner y Saeger (1991), quienes no encontraron relación entre el tipo de adenoma y el grado de invasión. Sin embargo si se observó que los prolactinomas, los gonadotrofos de hormona folículo estimulante y los negativos, presentaron tumores que tendieron a pertenecer al grado IV.

Los perfiles hormonales tendieron a ser mas altos en los prolactinomas de grado IV, en contraste con lo reportado por Knosp (1989), quien no encontró relación entre el estado hormonal y la proliferación tumoral.

No se encontró relación entre los perfiles hormonales y la intensidad de la reacción.

La bromocriptina no siempre produce disminución de los niveles séricos de prolactina del paciente ni una reducción del tamaño del tumor. Esto contrasta con las observaciones hechas por Ekramullah (1995), quien reportó que la bromocriptina baja los índices de proliferación celular medidos con Ki-67 y con el antígeno de proliferación celular (PCNA), pero se debe tomar en cuenta que Kovacs (1991) observó que existen dos tipos de células dentro de la población celular de los prolactinomas, uno que es irreversiblemente suprimido y no es capaz de recuperar su función endócrina y otro que retiene el potencial secretor y proliferan aun a pesar de la exposición a los agonistas de la dopamina. Por lo que hay casos, como en este estudio, en los que no bajan los niveles séricos de prolactina, o después de suspender la bromocriptina se elevan nuevamente y los tumores vuelven a crecer.

El 18% de los adenomas (22) volvieron a crecer, de los cuales el 59% (13) perteneció al grado IV, esto se encuentra dentro del rango del 10% al 35% reportado por Hsu et al. (1993). Estos autores señalan que los factores que correlacionan con la recurrencia tumoral son el tamaño y extensión del tumor y la resección incompleta de éste. Además demostraron que el antígeno de proliferación nuclear celular (PCNA) es mayor en este tipo de adenomas, lo cual indica su elevado índice de proliferación. Este es un punto importante para predecir la probabilidad de la recurrencia de los adenomas, tomando también en cuenta que los adenomas recurrentes no necesariamente pueden tener las mismas características endócrinas del tumor original (Watanabe et al. 1991), por lo que es necesario seguir de cerca a estos pacientes.

Estos datos parecen indicar que el comportamiento natural de los adenomas hipofisarios, es hacia la invasión de estructuras vecinas, sin afectar, sin embargo, el parénquima cerebral y sin enviar metástasis a distancia. Varias son las razones que explican el porque la diseminación metastásica es un evento raro. Las células adenohipofisarias pueden tener un potencial bajo de transformación maligna, pueden no tener la capacidad para penetrar la pared vascular, o pueden requerir un microambiente especial para su proliferación.

Una de las posibles causas por la que los tumores hipofisarios rara vez presentan metástasis, fué reportada por Takino et al. (1995). Ellos observaron que la alta expresión del gen nm23, que es un supresor de la metástasis, está asociada con los adenomas hipofisarios no invasivos, lo cual muestra la relación de su expresión con el comportamiento de estos tumores.

Meyer et al. (1993) reportaron que los adenomas son los tumores de menor malignidad, ya que al marcarlos con timidina tritiada y 5' bromodioxuridina, estos tienen un índice de marcaje menor al 1% en comparación con otros tumores intracraneanos, como los astrocitomas anaplásicos que van del 2.98% al 3%, o los tumores metastásicos del 8.5% al 15%, lo cual indica que los pacientes tienen un mayor período de supervivencia, ya que esta es inversamente proporcional al índice de marcaje.

Al microscopio electrónico nosotros observamos una relación entre las características ultraestructurales de los adenomas y su grado de malignidad. En los grados menores presentaron células con estructura bien definida, con citoplasma bien desarrollado, dejando ver su origen celular; pero en los grados mayores van perdiendo sus características, mostrando un citoplasma poco desarrollado, con cambios oncocíticos y con un núcleo y nucleolo que pierde su estructura compacta por una disgregada. Esto puede estar indicando que a mayor grado de malignidad, se va presentando una dediferenciación celular.

En este estudio los prolactinomas fueron los tumores de mayor frecuencia en el Instituto, con una alta proporción de adenomas de grado III y IV, una mayor incidencia de recurrencias y el único tipo que presentó tumores con características histológicas que indican malignidad.

VIII. GRAFICAS Y TABLAS

GLOSARIO

Ac= Acromegalia.

ACTH= Hormona adrenocorticotrofina.

Am= Amenorrea.

a= años

C= Cefalea.

CN= Adenoma de células nulas.

CORT= Cortisol

Cush= Síndrome de Cushing.

F= Femenino.

FSH= Hormona folículo estimulante.

G= Gigantismo.

Gal= Galactorrea.

H= Hidrocefalia.

HC= Hormona de crecimiento.

IR= Intensidad de la reacción.

LH= Hormona luteínica.

M= Masculino.

m= Meses

ME= Microscopía electrónica.

Mx= Mixto

Neg= Negativo.

NL= Normal.

Onco= Oncocitoma.

Ph= Plurihormonal.

Prl= Prolactina.

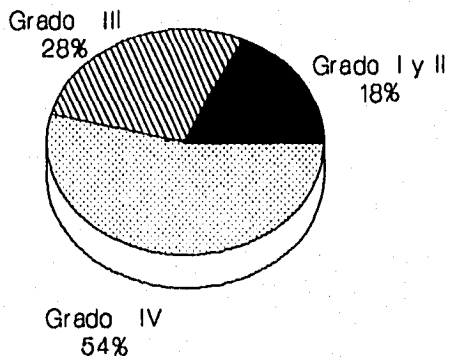
SQ= Síndrome quiasmático.

TE= Tiempo de evolución.

TSH= Hormona estimulante de la tiroides.

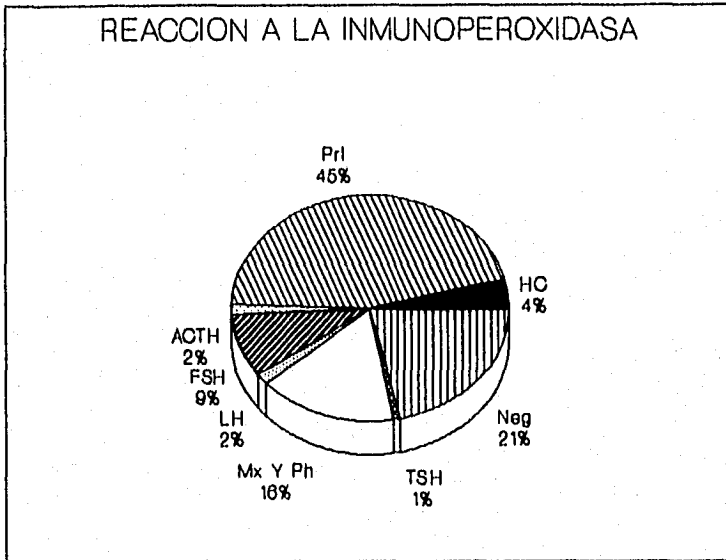
* = Recurrente.

CLASIFICACION SEGUN HARDY



Gráfica I : Grados de malignidad

REACCION A LA INMUNOPEROXIDASA



Gráfica II : Tipos de tumores

TABLA I

GRADO	NUMERO DE CASOS	SEXO (% F)	T. E. (años)
I	2	50	1.5
II	20	20	2.5
III A	14	64.5	2.7
III B	10	60	3.7
III C	10	80	3.2
IV A	10	60	3.2
IV B	33	36.4	2.6
IV C	23	47.8	3.6

TABLA II PROLACTINOMAS							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No.			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	F	38	11m	Ac	Prl: 27	2
2	II	M	36	10 m	SQ	Prl: 580	3
3	II	M	17	1a	SQ C	Prl: 400	1
4	II	M	18	3a 6m	SQ C	Prl: 320	3
5	II	M	44	2a	SQ C	NL	3
6	II	F	28	7m	SQ C	Prl: 105	1
					Am Gal		
7	II	M	59	5a	SQ	FSH. 16.1	2
8	II	F	68	1a	SQ C	Prl: 272	1
9	III A	F	48	1a 4m	SQ C Am	Prl: 477	3
10	III A	M	34	3a	C Gal	Prl: 0	3
11	III A	F	24	3a	C Am Gal	Prl: 460	1
12	III A	F	26	3a	C Am Gal	Prl: 90.4	2
13	III A	F	32	1a	SQ C	Prl: 128	3
					Am Gal		
14	III A	M	43	8 m	C	Prl: 46.8	3
15	III A	F	36	3a	SQ C Ac	Prl: 159	1
					Gal Am		
16	III B	F	35	3a	SQ Am	Prl: 76	2
17	III B	F	22	3a 8m	SQ Am Gal	Prl :42.8	2
18	III B	F	22	2a	SQ C*	Prl: 157.3	3
					Am Gal		
19	III B	M	24	1a	SQ	Prl: 220	3
20	III B	F	23	8a	SQ C	Prl: 317.5	
					Am Gal		
21	III C	F	62	1a 4m	SQ	Prl: 44.8	2
						TSH: 6.8	
22	III C	F	14	2a	SQ Am	Prl: 300	2
23	III C	F	26	2a	SQ Am Gal	Prl: 250	1
24	III C	F	45	2a 6m	SQ Am Gal*	Prl: 39.8	1
25	III C		57	3a	SQ C*	NL	1
26	III C	M	39	8a	C Gal *	Prl: 130.7	2
27	IV A	F	42	1a 4m	C Am Gal	Prl: 50.9	1

TABLA II PROLACTINOMAS: CONTINUACION

CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T.E.	CUADRO	PERFIL	I. R
No.			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
28	IV A	M	29	2a	SQ C*	Prl: 82	3
29	IV A	F	18	4a	SQ C Am	Prl: 210	3
30	IV A	M	50	1a	SQ C	Prl: 250	3
31	IV A	F	27	3a	SQ C	Prl: 44	1
					Am Gal	FSH: 23.8	
32	IV B	F	35	5a	SQ C *	Prl: 56.3	1
					Am Gal		
33	IV B	M	37	4a	SQ	Prl: 465.8	2
34	IV B	M	43	2a	SQ C*	Prl: 410	3
35	IV B	F	29	5a	SQ C	Prl: 800	3
					Am Gal		
36	IV B	M	42	1a 6m	C	NL	3
37	IV B	F	39	9a	SQ Am Gal*	Prl: 1900	2
38	IV B	F	43	2a	SQ Am*	Prl: 69.7	2
39	IV B	M	47	1a	C*	Prl: 46	3
40	IV B	F	13	2a	SQ*	Prl: 240	3
41	IV B	M	30	1a 6m	SQ	Prl: 420	3
42	IV B	M	32	4 m	SQ C	Prl: 47	3
43	IV B	M	43	1a	SQ	Prl: 42.9	3
44	IV B	M	28	1a 2m	SQ C	Prl: 490	1
45	IV C	M	22	2a	SQ C	Prl: 240	3
46	IV C	M	55	1a 6m	SQ	NL	1
47	IV C	F	27	3a	SQ C	Prl: 61.4	2
					Am	TSH: 7.8	
48	IV C	M	33	4a	SQ Ac	Prl: 26.5	1
						HC: 40.5	
49	IV C	F	26	2a	Gal Am*	Prl: 198.8	3
50	IV C	F	74	6a	SQ	Prl: 44.2	1
51	IV C	F	42	3a 6m	SQ C	Prl: 92	1
52	IV C	F	41	9m	SQ	Prl: 1000	2
53	IV C	M	60	1a 6m	SQ C	NL	2
54	IV C	M	59	2a	SQ Ac*	Prl: 30.8	2
55	IV C	F	26	2a	SQ C	Prl: 1000	1
					Am Gal		

TABLA III ADENOMAS SOMATOTROFOS							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No.			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	M	20	2a	SQ C Ac	NL	1
2	III C	F	35	3a	SQ Am Gal	Prl: 61	1
3	IV B	M	32	3a 6m	SQ Ac	HC: 50	1
4	IV B	M	43	1a 6m	SQ C	NL	1
5	IV C	M	54	6a	SQ*	NL	1

TABLA IV ADENOMAS GONADOTROFOS							
Hormona Foliculo Estimulante							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No.			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	M	42	2a	SQ C	NL	3
2	II	M	71	1a	SQ	FSH: 30	1
3	III C	F	63	1a	SQ C	NL	2
4	IV A	F	48	6a	SQ C	FSH: 38.9	1
5	IV A	M	57	2a	SQ C	NL	1
6	IV B	F	42	2a	SQ C	Prl: 67	1
					Am Gal	FSH: 40.9	
7	IV B	M	24	1a	SQ Ac	FSH: 18.3	2
						Prl: 210	
8	IV B	M	35	6a	SQ	NL	1
9	IV B	M	68	2a	SQ	FSH: 22.8	1
10	IV C	M	68	5a	SQ C	NL	2
11	IV C	M	63	2a	SQ	FSH: 18.9	1

TABLA V ADENOMAS GONADOTROFOS Hormona Luteinica							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No.			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	III A	F	38	1a 3m	SQ C Gal	LH: 26.6	1
						Pr1: 42	
2	IV C	M	46	7a	SQ	NL	1

TABLA VI ADENOMAS TIROTROFOS							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	M	71	1a	SQ C	NL	1

TABLA VII CORTICOTROFOS							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No		(años)			CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	III A	F	51	1a 6m	SQ C	FSH: 20.8	2
						Pr1: 68	
						TSH: 35.5	
2	III B	F	48	5a	SQ C	CORT: 312	1

TABLA VIII PROLACTINA - HORMONA DE CRECIMIENTO

CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	I	M	31	2a 6m	Ac	Pr1:101 HC: 14	Pr1: 2 HC: 2
2	II	M	32	4a	C Ac	HC:37	Pr1: 1 HC: 2
3	III A	F	52	11a	SQ C Ac Am Gal	Pr1: 54 HC: 30	Pr1: 1 HC: 1
4	III B	M	20	8a	G	HC: 13.8 Pr1: 159.4	Pr1: 3 HC: 2
5	III C	F	31	8a	SQ C Ac* Am Gal	Pr1: 44.8 HC: 22.4	Pr1: 3 HC: 2
6	IV A	F	46	8a	C Ac Gal	Pr1: 26 HC: 22.6	Pr1: 2 HC: 2
7	IV A	F	25	2a	SQ C Ac Gal	Pr1: 25 HC: 28.3	Pr1: 2 HC: 1
8	IV B	M	20	2a	SQ Ac	HC: 33.1	Pr1: 3 HC: 1
9	IV B	M	54	1a	SQ C	Pr1: 24.7	Pr1: 1 HC: 1
10	IV B	F	47	2a	Ac Gal	Pr1: 116 HC: 8.1	Pr1: 1 HC: 1

TABLA IX PROLACTINA: HORMONA ESTIMULANTE DE LA TIROIDES

CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	F	23	4a	SQ C Am Gal	LH: 21.5 Pr1: 420	Pr1: 3 TSH: 1
2	III B	M	31	1a 6m	SQ C	CORT: 500	Pr1: 1 TSH: 2
3	IV A	M	43	2a	SQ C*	NL	Pr1: 2 TSH: 1
4	IV B	M	27	2a	SQ C	Pr1: 37 TSH: 5	Pr1: 1 TSH: 1

TABLA X PROLACTINA HORMONA ADRENOCORTICOTROFINA							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	M	68	1a	SQ H	NL	Prl: 3 ACTH: 1
2	IV B	F	60	10a	C	CORT: 267	Prl: 1 ACTH: 1

TABLA XI PROLACTINA - HORMONA LUTEINICA							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	I	F	33	6m	Am Gal	Prl: 76 HC: 52	Prl: 3 LH: 2

TABLA XII HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE HORMONA LUTEINICA							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	II	M		1a	SQ C	FSH: 16.8	FSH: 1 LH: 1
2	IV B	F	35	2a	SQ C Am Gal	LH: 26	FSH: 2 LH: 1

TABLA XIII HORMONA DE CRECIMIENTO - FOLICULO ESTIMULANTE - ESTIMULANTE DE LA TIROIDES							
CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL	I. R.
No			(años)		CLINICO	HORMONAL	(cruces)
1	III A	F	55	8a	C Ac	FSH: 45 HC: 34	HC: 3 FSH: 3 TSH: 1

TABLA XIV NEGATIVOS PARA LA INMUNOPEROXIDASA

CASO	GRADO	SEXO	EDAD	T. E.	CUADRO	PERFIL
No			(años)		CLINICO	HORMONAL
1	II	M	24	6a	SQ C Cush	NL
2	III A	M	35	1a	SQ C	CORT: 375
3	III A	M	54	2m	SQ C	FSH: 16.3
4	III A	M	38	1a 1m	SQ C	Prl: 29
5	III B	M	42	7a	C Ac*	HC: 12.6
6	IV B	F	52	3a	SQ Gal	Prl: 51.7
7	IV B	M	45	1a	SQ	Prl: 33.5
8	IV B	M	70	1a	SQ C	TSH: 6.3
9	IV B	F	18	4a	SQ C *	Prl: 1000
					Am Gal	
10	IV B	F	47	2a	SQ C	Prl: 54.4
					Am Gal	
11	IV C	M	39	3a	SQ C *	FSH: 24.7
12	IV C	F	55	2a	C Ac	Prl: 54
						HC: 18
13	IV C	M	48	4a	SQ C	Prl: 500
14	IV C	F	32	8a	SQ Am Gal	Prl: 32

TABLA XV NEGATIVOS PARA LA INMUNOPEROXIDASA NO FUNCIONANTES							
No	GRADO	SEXO	EDAD (años)	T. E.	CUADRO CLINICO	PERFIL HORMONAL	ME
1	II	M	55	1a 6m	SQ *	NL	Onco
2	II	M	61	11a	SQ *	NL	Onco
3	II	M	69	3m	SQ C	NL	Onco
4	III B	F	75	4m	SQ C	NL	C N
5	III C	M	52	1 a 6	SQ C	NL	Onco
6	IV B	M	45	8m	SQ C	NL	C N
7	IV B	M	63	2a	SQ	NL	C N
8	IV B	M	58	3a 6m	SQ	NL	Onco
9	IV C	F	55	2a 6m	SQ C	NL	Onco
10	IV C	M	47	3a 6m	SQ	NL	Onco
11	IV C	F	67	2a	SQ	NL	Onco
12	IV C	F	21	1a 6m	SQ Am	NL	Onco

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

IX. BIBLIOGRAFIA

- Aron-D.C., Tyrrell-J.B., Wilson-C.B. Pituitary tumors. Current concepts in diagnosis and management. *West. J. Med. Apr.* 162:4, 340-352, 1995.
- Asa, S.L., Kovacs, K., Bilbao, J.M. The pars tuberalis of the human pituitary. *Virchows Arch. (Pathol. Anat).* 399:49-59, 1983.
- Ashton, J.K. Immunoperoxidase staining techniques and applications. *Lab. Management*, August, 1985.
- Atienza, D.M., Vigersky, R.J., Lack, E.E., Carriaga, M. Prolactin producing pituitary carcinoma with pulmonary metastases. *Cancer*, oct. 1, 68:7, 605-1610. 1991
- Baker, B.L., Jaffe, R.B. The genesis of the cell types in the adenohypophysis of the human fetus as observed with immunocytochemistry. *Am. J. Anat.* 143: 137-161, 1975.
- Begeot, M., Dubois, M.P. Immunologic localization of alpha and beta endorphins and beta lipotropin in corticotropic localization of the normal and anencephalic fetal pituitaries. *Cell. Tiss Res.* 193:413-422, 1978.
- Ben-Jonathan, N. Oliver, C., Mical, R.S., Porter, J.C. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 35: 547, 1976.
- Brookes, L.D. A stain for differentiating two types of acidophil cells in the rat pituitary. *Stain. Technol.* 43:41-42, 1968.
- Brown, W.A., William, B.M. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 43:937, 1976.
- Calderon, L., Ryan, N., Kovacs, K. Human pituitary growth hormone cells in old age. *Gerontology*, 24:441-447, 1978.
- Cox, B.M., Baizman, E.R., Su, T-P., Osman, O.H., Goldstein, A. Further studies on the nature and functions of pituitary endorphins. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 18:183-189, 1978.
- Crocker, D.W.: The pituitary gland. En: Coulson W.F. (ed): *Surgical pathology*, p. 878-898, Lippincott, Philadelphia, 1978.
- Daniel, P.M., Prichard, M.M.L. Studies of the hypothalamus and the pituitary gland. *Acta Endocrinol. (Kbh)* 80. Suppl. 201:1 - 216. 1975.
- Delgrange, E., Maiter, D. Nonfunctioning pituitary adenomas towards a morfological and functional classification. *Louvain. Med.* 112:787-792, 1993.

Dubois, P.M., Begeot, M., Dubois, M.P., Herbert, D.C., Immunocytological localization of LH, FSH, TSH and their subunits in the pituitary of normal and anencephalic human fetuses. *Cell. Tiss. Res.* 191:249-265, 1978.

Ekramullah-S.M., Sartoh-Y., Ohnishi-T., Arita-N., Taki-T., Hayakawa-T. Effects of bromocriptine on staining indices of Ki-67 and proliferating cell nuclear organizer region number in pituitary adenomas. *Neurol. Med. Chir. Tokyo. Apr.* 35:4, 221-226, 1995.

Fawcett, D.W. *Tratado de histología.* Ed Interamericana, Mc Graw-Hill, 1026 p.p. México, 1989.

Gluckman, P.D., Grumbach, M.M., Kaplan, S.L. The neuroendocrine regulation and function of growth hormone and prolactin in the mammalian fetus. *Endocr. Rev.* 2:363-395, 1981.

Gomez-F. Endocrinological aspects of hypophyseal tumors. *Schweiz. Rundsch. Med. Pract.* Jun 20, 84:25-26, 770-777.

Goodyer, C.G., Guyda, H.J., Giroud, C.J.P. Development of the Hypothalamic - Pituitary axis in human fetus. p.p. 199-214. In: *Clinical neuroendocrinology. A pathophysiological Approach* Toils G. (Eds) New York: Raven Press, 1979.

Guesdom, J.L., Ternynck, T., Avrameas, S. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *J. Histochem Cytochem.* 27:1131-1139, 1979.

Guillemin, R. Hypothalamic hormones: releasing and inhibiting factors. *Hosp. Pract.* Nov. 1973.

Halmi, N.S., Parsons, J.A., Erlandsen, S.L., Duello, T. Prolactin and growth hormone cells in the human hypophysis. A study with the immunoenzyme histochemistry and differential staining. *Cell Tissue Res.* 158:497-507, 1975.

Halmi, N.S. Moriarty, G.C. The cells of origin of ACTH in man. *Ann NY Acad Sci.* 297:167-181, 1977.

Hardy, J. Transsphenoidal surgery of hypersecreting pituitary tumors. En: *Diagnosis and treatment of pituitary tumors.* Int. Congress series 303, Amsterdam, Excerta Medica, 1973

Herbert, E., Roberts, J., Phillips, M., Allen, R., Hinman, M. Biosynthesis, processing and release of corticotroph hormone in pituitary culture systems. p.p.67-101. In *Frontiers in neuroendocrinology*, Vol. 6 Martini, L., Ganong, W.F., (Eds). New York: Raven Press, 1980.

Ho-D.W., Liu-H.C. Prolactin-containing pituitary adenomas their characteristics and comparative study with non-prolactin adenomas. *Path. Res. Pract.* 188:3, 296-302, 1992.

Horvath, E., Kovacs, K. Missplaced exocytosis. *Arch. Pathol.* 97:221-224, 1974

Horvath, E., Kovacs, K. Pathology of the pituitary gland, pp. 1-83. En *Pituitary Diseases*. Ezrin C. (Eds) Boca Raton, FL: CRC Press, 1980 a.

Horvath, E., Kovacs, K., Killinger, D.W., Smyth, H.S., Platts, M.E., Singer, W. Silent corticotrof adenomas of the human pituitary gland. *Am J. Pathol.* 98:617-638, 1980 b.

Horvath, E., Kovacs, K. Gonadotroph adenomas of the human pituitary sex-related fine structural dichotomy. A histologic, immunocytochemical and electron microscopic study of 30 tumors. *Am. J. Pathol.* 117:429-440, 1984.

Horvath, E., Kovacs, K. Ultrastructural diagnosis of human pituitary adenomas. *Microscopy Research and technique*, 20:107-135, 1992.

Horvath, E. Ultrastructural markers in the pathologic diagnosis of pituitary adenomas. *Ultrastruc. Pathol.* 18:1-2, 171-179, 1994.

Hsu-D.W., Hakim-F., Biller-B.M., De la Monte S., Zervas-N.T., Klubanski-A., Hedley-Whyte, E.T. Significance of proliferating cell nuclear antigen index in predicting pituitary adenoma recurrence. *J. Neurosurg. May.* 78:5, 753-761, 1993.

Jamjoom, A., Moss, T., Coakham, H., Jamjoom, Z.A., Anthony, P. Cervical lymph nodes metastases from a pituitary carcinoma. *Br. J. Neurosurg.* 8:1, 87-92, 1994.

Kiyoshi, Mukai M.D. Pituitary adenomas. Immunocytochemical study of 150 tumors with clinicopathologic correlation. *Cancer* 52:648-653, 1983.

Knosp-E., Kitz-K., Pernezzky-A. Proliferation activity in pituitary adenomas. Measurement by monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 25:6, 927-930, 1989.

Kontogeorgos, G., Kovacs, K., Horvath, E., Scheithauer, W. Multiple adenomas of the human pituitary. A retrospective autopsy study with clinical implications. *J. Neurosurg.* 74: 243-247, 1991.

Kovacs, K., Horvath, E., Startmann, I.E., Ezrin, C. Cytoplasmic microfilaments in the anterior lobe of the human pituitary gland. *Acta Anat. (Basel)*, 87:414-426, 1974.

Kovacs, K., Horvath, E., Corenblum, B., Sirek, A.M.T., Penz, G., Ezrin, C. Pituitary chromophobe adenomas consisting of prolactin cells. A histologic, immunocytological and electron microscopic study. *Virchows Arch. Pathol. Anat.* 366:113-123, 1975.

Kovacs, K., Horvath, E., Van Loon, G.R., Rewcastle, N.B., Ezrin, C., Rosenbloom, A.A. Pituitary adenomas associated with elevated blood follicle stimulating hormone levels. A histologic, immunocytologic and electron microscopic study of two cases. *Fertil Steril*, 29:622-628, 1978.

Kovacs, K., Horvath, E., Rewcastle, N.B., Ezrin, C. Gonadotroph cell adenoma of the human pituitary in woman with long standing hypogonadism. *Arch Gynecol.* 299:57-65, 1980.

Kovacs, K., Horvath, E., Ryan, N. Immunology of the human pituitary. En: *Diagnostic immunohistochemistry. Masson monographs in diagnostic pathology.* De Iellis Ronald A. Masson publishing Ed. USA. p.p. 17-35, 1981.

Kovacs, K., Horvath, E. Tumors of the pituitary gland. Armed Forces Institute of pathology. Washington D.C. 1983.

Kovacs, K., Horvath, E. Tumors of the pituitary gland. Atlas of tumor pathology, second series, fascicle 21, Armed Forces. Institute of Pathology, Bethesda, 1986.

Kovacs, K., Stefaneanu, L., Horvath E., Lloyd, R.V., Loncranjan, I., Buchfelder, M., Fahlbusch, R. Effect of dopamine agonist medication on prolactin producing pituitary adenomas. A morphological study including immunocytochemistry, electron microscopy and in situ hybridization. *Virchows. Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 418:5, 439-446, 1991.

Kowada, M., Saito, M. Primary pituitary carcinoma with spinal cord metastases. *Neurol. Med. Chir. Oct.* 30:10, 763-767, 1990.

Leznof, A., Fishman, J., Goodfriend, L., McGary, E., Beck, J., Rose, B. Localization of fluorescent anti-bodies to human growth hormone in human anterior pituitary glands. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104:232-235, 1960.

Leznof, A., Fishman, J., Talbot, M., McGary, E., Beck, J.C., Rose, B. The cytological localization of ACTH in human pituitary. *J. Clin. Invest.* 41:1720-1724, 1962.

Marshall, J.M. Jr. Localization of adenocorticotrophic hormone by histochemical and immunochemical methods. *J. Exp. Med.* 94:21-30, 1951.

Martínez, A.J. The pathology of nonfunctional pituitary adenomas. *Semin. Diag. Pathol.* 3:83-94, 1986.

Masson, T.E., Phifer, R.F., Spicer, S.S., Swallow, R.A., Dreskin, R.B. An immunoglobulin enzyme bridge method for localizing tissue antigens. *J. Histochem. Cytochem.* 17:563-569, 1969.

McGary, E., Beck, J.C., Ambe, L., Nayak, R. Some studies with antisera to growth hormone, ACTH and TSH. *Rec. Prog. Horm. Res.* 20:1-23, 1964.

Meyer-J.S., Marchasky-J.A., Hookey-W.F. Cell kinetic classification of tumors of the nervous system by DNA precursor labelling in vitro. *Hum. Pathol.* 24:12, 1357-1364, 1993.

Moriarty, G.C., Tobin, R.B. Ultrastructural immunocytochemical characterization of the thyrotroph in rat and in human pituitaries. *J. Histochem. Cytochem.* 24:1131-1139, 1976.

Nagaya-T., Seo-H., Kuwayama-A., Sakurai-T., Tsukamoto-N., Sugita-K., Matsui-N. Prolactin gene expression in human growth hormone secreting pituitary adenomas. *J. Neurosurg.* 72:6, 879-882, 1990.

Nakane, P.K., Pierce, G.B. Jr. Enzyme labeled antibodies. Preparation and application for the localization of antigens. *J. Histochem Cytochem* 14:929-931, 1966.

Nakane, P.K. Simultaneous localization of multiple tissue antigens utilizing the peroxidase-labeled antibody method. A study on pituitary glands of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 16:557-560, 1968.

Nayak, R., McGary, E., Beck, J.C., Site of prolactin in the pituitary gland as studies by immunofluorescence. *Endocrinology* 83:731-736, 1968.

Netter, F.H., Ezrin, C., Lerner, A.B. The hypophysis. Vol 4 p.p. 3-258. In *Endocrine system and selected metabolic diseases. The Ciba collection of medical illustrations. Ciba pharmaceutical Co., 1974.*

Pagesy-P., Li-J.Y., Rentier-Delrue, F., Delalande-O., Le-Bour-Y., Kujas-M. Growth hormone and somatostatin gene expression in pituitary adenomas with active acromegaly and minimal plasma growth hormone elevation. *Acta Endocrinol.* 121:6, 745-752, 1990.

Pelletier, G., Robert, F., Hardy, J. Identification of human anterior pituitary cells by immunoelectronmicroscopy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46:534-542, 1978.

Phifer, R.F., Spicer, S.S., Orth, D.N. Specific demonstration of the human hypophyseal cells which produce adrenocorticotrophic hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 31:347-361, 1970.

Phifer, R.F., Midgley, A.R., Spicer S.S. Immunohistologic and histologic evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone are present in the same cell type in the human pars distalis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:125-141, 1973.

Phifer, R.F., Spicer, S.S. Immunohistochemical and histologic demonstration of thyrotropic cells of the human adenohypophysis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 36:1210-1221, 1973.

Phifer, R.F. Orth, D.N., Spicer, S.S. Specific demonstration of the human hypophyseal adrenocortico-melanotropic (ACTH- MSH) cell. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39:684-692, 1974.

Ryan, N., Kovacs, K., Ezrin, C. Staining of human pituitary glands with lead hematoxilin in comparison with other histochemical procedures, including the immunoenzyme technique. *Acta Histochem.* 59:96-105, 1977.

Rosai, J. Pituitary adenomas. En: Rosai J. (ed): *Ackerman's surgical pathology*. 7th ed. p.1779, C.V. Mosby, St. Louis, 1989.

Russfield, A.B. Adenohypophysis, p.p. 75-116. En: *Endocrine Pathology*. Bloodworth, J.M.B., Jr (Ed). Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1968.

Sachar, E.J., Gruen, P.H., Altman, N.S., Halpern, F.S., Frantz, A.G. En: *Hormones behavior and psychopathology*. (E.J. Sachar, ed), p 261 Raven, New York, 1976.

Sautner, D., Saeger, W. Invasiveness of pituitary adenomas. *Path. Res. Pract.* 187:5, 632-636, 1991.

Schally, A.V., Arimura, A., Kastin, A.J. Hypothalamic regulatory hormones. *Sci.* 179:341-350, 1973.

Scherthauer-B.W., Kovacs, K.T., Laws-E.R., Randall-R.V. Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J. Neurosurg.* 65:6, 733-744, 1986.

Shaar, C.J., Clemens, J.A. *Endocrinology.* 95: 11202, 1974.

Sheehan, H.L., Kovacs, K. Neurohypophysis and hypothalamus, p.p. 45-99. En: *Endocrine Pathology, segunda edicion* Bloodworth, J.M.B., Jr (Ed). Baltimore: the Williams & Wilkins Co. 1982.

Sherthauer, B.W., Kovacs, K.T., Laws, E.R., Randall, R.V., Pathology of invasive pituitary tumors with special reference to functional classification. *J. Neurosurg.* 65:6, 733-744, 1986.

Sternberger, L.A. *Immunocytochemistry*. Engelwood Liffs, New Jersey, Prentice-Hall, 1974.

Tanner, J.M. Human growth hormone. *Nature*, 237:433-439, 1972.

Takino, H., Herman V., Weiss-M., Melmed-S. Purine binding factor (nm23) gene expression in pituitary tumors: marker of adenoma invasiveness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* May. 80:5, 1733-1738, 1995.

Taylor, C. R. Immunomicroscopy: A diagnostic tool for the surgical pathologist. En: *Major problems in pathology*. James L. Bennington M.D. Vol. 19, p.23 - 42. W.B. Saunders Co. 1986.

Watanabe-H., Kudo-K., Okushima-T., Fukita-Y., Takebe-K. A null cell adenoma of the pituitary detected seven years after removal of a prolactinoma. Recurrence o de novo tumourigenesis?. *Acta Endocrinol.* 125:6, 700-704, 1991.

Yokoyama-S., Goto-M., Asakura-T., Hirahara-K., Tsuyama-S., Murata-F. Histopathological study of the effect of octreotide. *Noshuyo Byon.* Mar. 12:1, 7-13, 1995.