

INÊS LIGUORI PADRÃO

ADENOMAS HIPOFISÁRIOS:

estudo clínico, morfológico e morfométrico; busca de fatores de prognóstico utilizando o método imunohistoquímico

CAMPINAS

2007

INÊS LIGUORI PADRÃO

ADENOMAS HIPOFISÁRIOS:

estudo clínico, morfológico e morfométrico; busca de fatores de prognóstico utilizando o método imunoistoquímico

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas, área de concentração em Ciências Biomédicas.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. PATRÍCIA SABINO DE MATOS

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

P136a Padrão, Inês Liguori
Adenomas hipofisários: estudo clínico, morfológico e morfométrico: busca de fatores de prognóstico utilizando o método imunistoquímico / Inês Liguori Padrão. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

Orientador : Patrícia Sabino de Matos
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipófise. 2. Imunohistoquímica. 3. Galanina. 4. Ki 67.
5. Genes p53. 6. CD 34. 7. Síndrome das Neoplasias Endócrinas Múltiplas Tipo 1. I. Matos, Patrícia Sabino de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Título em inglês : Pituitary adenomas: a clinical, morphological and morphometric study: searching for prognostic factors with the immunohistochemical method

Keywords: • Pituitary Gland
• Immunohistochemistry
• Galanin
• Ki 67
• Genes, P53
• CD 34 Antigen
• Multiple Endocrine Neoplasia Type 1

Titulação: Doutor em Ciências Médicas

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Banca examinadora:

Profa. Dra Patrícia Sabino de Matos

Profa. Dra. Fátima Regina Chaves

Prof Dr Leandro Luiz Lopes de Freitas

Profa. Dra. Liliana Aparecida Lucci De Ângelo Andrade

Prof Dr Sérgio Rosemberg

Data da defesa: 30 - 07 - 2007

Banca examinadora da tese de Doutorado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Patrícia Sabino de Matos

Membros:

1. Fátima Regina Chaves

2. Liliana Ap. Lucci De Angelo Andrade

3. Sérgio Rosemberg

4. Leandro Luiz Lopes de Freitas

5. Patrícia Sabino de Matos

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

30/07/2007

AGRADECIMENTOS

Sra. Maria do Carmo Machado da Silva, secretária da sub comissão de pós graduação em Anatomia Patológica, pela atenção carinhosa.

Prof. Dr. José Vassallo e Prof. Dra. Liliana Aparecida Lucci De Angelo Andrade, pela ajuda com os anticorpos para a imunoistoquímica.

Prof. Dr. Luciano Souza Queiroz pela ajuda na composição da amostra deste trabalho.

	<i>PÁG.</i>
RESUMO	<i>xxi</i>
ABSTRACT	<i>xxvii</i>
INTRODUÇÃO	33
Relações anatômicas.....	35
Organogênese.....	38
Fisiologia.....	41
Anatomia microscópica.....	46
Suprimento sanguíneo.....	49
Adenoma hipofisário.....	57
Epidemiologia.....	72
Patogenia dos adenomas hipofisários.....	73
JUSTIFICATIVA	83
OBJETIVOS	87
MATERIAL E MÉTODOS	91
RESULTADOS	99
DISCUSSÃO	123
CONCLUSÕES	139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143
APÊNDICE	157

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADH	Hormônio antidiurético
CD34	Marcador de angiogênese
CGRP	Gene relacionado ao peptídeo calcitonina
CRH	Hormônio liberador de corticotropina
DMV	Densidade microvascular
DNA	Ácido desoxiribonucleico
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGFR	Receptor de EGF
ER	Receptor de estrógeno
FGF	Fator de crescimento fibroblástico
FGFR	Receptor de FGF
FSH	Hormônio folículo-estimulante
Gal	Galanina
GH	Hormônio de crescimento
GHRH	Hormônio liberador de GH
GnRH	Hormônio liberador de gonadotropina
GSU	Subunidade de hormônio glicoproteico
HE	Hematoxilina e eosina
IGF	Fator de crescimento insulina <i>símile</i>
Ki 67	Marcador de proliferação

LH	Hormônio Luteinizante
MEN 1	Síndrome das neoplasias endócrinas múltiplas tipo 1
NGF	Fator de crescimento de nervo
NGFR	Receptor de NGF
P53	gene supressor tumoral
PRL	Prolactina
PTTG	Gene de transformação tumoral da hipófise
Rpx	Gene homeobox da bolsa de Rathke
SP	Substância P
SRIF	Fator inibidor da liberação de somatostatina
T3	Triiodotironina
TEF	Fator tireotrófico embrionário
TGF	Fator de transformação de crescimento
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
TSH	Hormônio tireotrófico
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
VEGFR	Receptor de VEGF

Autócrino: Um sinalizador autócrino é um mensageiro químico (hormônio) produzido por uma célula (chamado de agente autócrino), que age nesta mesma célula.

Bombesina *Símiles* : Peptídeos relacionados com a termorregulação, glicorregulação, manutenção dos ritmos circadianos , inibição da ingesta alimentar e a secreção de hormônios adeno-hipofisários.

CD34: anticorpo que cora intensamente células endoteliais e é usado para marcar capilares em tecidos normais e neoplásicos e em neoplasias originadas de células endoteliais.

Complexo de Carney: Doença autossômica dominante que consiste de mixomas de tecidos moles, pigmentação cutânea, tumores da supra renal, hipófise e testículos, e schwannomas de nervos periféricos.

Galanina: neuropeptídeo largamente distribuído no sistema nervoso central e periférico e sistema glandular endócrino. No cérebro, as maiores concentrações são observadas no hipotálamo e terminações nervosas da eminência mediana.

Homeobox: Um homeobox é um segmento de uma seqüência de DNA encontrado em genes envolvidos na regulação do desenvolvimento (morfogênese) de animais, fungos e plantas. Genes que tem um homeobox são chamados de genes homeobox e formam a família de genes homeobox; esses genes codificam fatores de transcrição que ativam outros genes numa reação em cadeia, por exemplo, todos necessários para desenvolver uma perna.

Ki 67: antígeno nuclear presente nas fases G1, S, G2 e M do ciclo celular.

Ki S5: clone que reconhece o antígeno Ki 67 em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina.

Leptina: (do grego leptos = magro) proteína secretada por adipócitos e que age no sistema nervoso central (SNC) promovendo menor ingestão alimentar, incrementando o metabolismo energético, regulando o sistema neuroendócrino.

Menin: supressor tumoral relacionado à síndrome das neoplasias endócrinas múltiplas (MEN -1).

Neuropeptídeo Y: Neurotransmissor que apresenta um efeito estimulatório sobre a ingestão alimentar. Tem influência sobre a secreção de hormônios hipofisários.

p53: gene supressor tumoral que quando alterado promove o acúmulo de proteína aberrante, detectável pelo método imunistoquímico.

Parácrino: Um hormônio parácrino é uma molécula produzida por uma célula para agir sobre células vizinhas a ela. O efeito parácrino tem a função de suprir a necessidade de um conjunto de células adjacentes por uma grande concentração de hormônios sem comprometer outras células do corpo com uma possível toxicidade

Síndrome de McCune-Albright: doença caracterizada pela tríade de displasia fibrosa poliostótica, pigmentação café com leite e alguma endocrinopatia.

Síndrome de Nelson: Adenoma produtor de ACTH de comportamento agressivo, que surge após adrenalectomia bilateral por Síndrome de Cushing.

Substância P: neurotransmissor que contribui para sensibilizar os receptores nociceptivos.

LISTA DE TABELAS

		<i>PÁG.</i>
Tabela 1-	Classificação neuroradiológica dos adenomas hipofisários.....	60
Tabela 2-	Modo de crescimento X sub tipos hormonais.....	103
Tabela 3-	Subtipos hormonais X status funcional X classificação de Hardy.....	105
Tabela 4-	Sintomatologia Endócrina.....	107
Tabela 5-	AH com índice de proliferação (Ki 67) igual ou maior do que 3%.....	110
Tabela 6-	Médias do índice de Ki 67 nos AH de graus I, II, III, IV.....	111
Tabela 7-	Média dos índices de p53 nos AH de graus I, II, III e IV.....	112
Tabela 8-	Média do índice de DMV pelo CD34, nos AH de graus I, II, III e IV.....	114
Tabela 9-	Subtipos hormonais e menin.....	120
Tabela 10-	Tabela de casos da amostra.....	159
Tabela 11a-	Adenomas hipofisários negativos para o anticorpo menin.....	161
Tabela 11b-	Adenomas hipofisários positivos para o anticorpo menin.....	162

LISTA DE FIGURAS

	<i>PÁG.</i>
Figura 1- Relações anatômicas da Hipófise.....	35
Figura 2- Relações anatômicas da Hipófise.....	36
Figura 3- Relações anatômicas da Hipófise.....	37
Figura 4- Desenvolvimento embrionário.....	38
Figura 5- Desenvolvimento embrionário.....	39
Figura 6- Conexões hipotálamo-hipofisárias.....	44
Figura 7- Representação esquemática da classificação de Hardy.....	52
Figura 8- Aspectos histológicos e imunoistoquímicos dos AH.....	71
Figura 9- Imunoistoquímica com marcadores p53, Ki 67 e CD 34.....	116
Figura 10- Imunoistoquímica para galanina.....	119
Figura 11- Imunoistoquímica para menin.....	122

	PÁG.
Gráfico 1- Distribuição dos AH da amostra segundo a classificação de Hardy.....	101
Gráfico 2- Padrão de crescimento e <i>status funcional</i>	102
Gráfico 3- Distribuição dos subtipos hormonais.....	103
Gráfico 4- Sintomatologia neurológica e psiquiátrica.....	106
Gráfico 5- Distribuição dos AH nas faixas etárias.....	108
Gráfico 6- Distribuição dos adenomas nos sexos feminino e masculino.....	108
Gráfico 7- Recidiva tumoral.....	109
Gráfico 8- Correlação positiva entre os valores de Ki 67 e p53.....	114
Gráfico 9- Distribuição dos subtipos hormonais GAL positivos.....	117

RESUMO

Introdução

Adenomas hipofisários (AH) são neoplasias epiteliais geralmente bem diferenciadas e benignas. Manifestam-se clinicamente com sintomas de excesso ou redução hormonal e/ou de massa intracraniana. São classificados conforme aspecto macroscópico/radiológico (macro x microadenomas; invasivos x não invasivos), *status* funcional (funcionantes x não funcionantes), citológico (acidófilos, basófilos e cromóforos) e imunoistoquímicos/ultraestruturais (somatotropinomas, prolactinomas, corticotropinomas, tireotropinomas, gonadotropinomas e de células nulas).

Entre as heterogêneas formas de apresentação, evolução e manifestações clínicas, adenomas invasivos e macroadenomas não invasivos são os que limitam o tratamento cirúrgico, com recidivas determinantes de morbidade endócrina e /ou neurológica.

Variantes agressivas e não agressivas podem exibir aspecto histológico semelhante, motivando a investigação imunoistoquímica, genética e de biologia molecular, com o propósito de relacionar mecanismos de tumorigênese com o comportamento biológico desses tumores, como crescimento invasivo e recorrência.

Objetivos

Classificação e estudo da frequência dos AH da amostra sob o ponto de vista funcional embasada na sintomatologia clínica;

Classificação anatômica/neuroradiológica baseada no tamanho tumoral e grau de invasão, utilizando a gradação de Jules Hardy;

Classificação e estudo da frequência dos subtipos hormonais, utilizando o método imunoistoquímico.

Correlacionar dados clínicos, anatômicos, imunoistoquímicos, com o grau de agressividade dos AH, buscando fatores de prognóstico utilizando marcadores de atividade proliferativa (Ki 67), alteração de gene supressor tumoral (p53 e menin), angiogênese (CD 34) e expressão de neuropeptídeo (Galanina).

Material e métodos

Avaliamos AH de 61 pacientes submetidos à ressecção cirúrgica, sob o ponto de vista clínico, anatômico/neuroradiológico e imunoistoquímico. Utilizamos a técnica imunoistoquímica: para a determinação dos diferentes subtipos hormonais e para o Ki 67 como marcador de proliferação, o p53 e menin como marcadores de supressão tumoral, CD34 para a avaliação da angiogênese e Galanina para avaliar a presença desse neuropeptídeo.

Resultados

A amostra está constituída por 57 (93,4%) macroadenomas (19 invasivos e 38 não invasivos) e 4 microadenomas não invasivos; a frequência de invasão foi de 62,3%.

Vinte e cinco (41%) AH são clinicamente funcionantes (13 somatotropinomas, 6 prolactinomas, 6 corticotropinomas) e 36 (59%) não funcionantes (32 AH silenciosos e 4 de células nulas).

Macroadenomas invasivos não funcionantes predominaram em relação aos macroadenomas invasivos funcionantes ($p=0,014$). Houve 54,09% de recidiva.

A imunoistoquímica revelou expressão positiva para hormônio do crescimento (GH) em 18 AH, 10 AH expressaram prolactina (PRL), 12 positivos para corticotropina (ACTH), 17 para gonadotrofinas e 4 AH negativos para todos os hormônios.

A sintomatologia endócrina incidiu em 42,62% dos casos e os sintomas neurológicos em 88%. Homens e mulheres foram igualmente afetados e a maioria dos AH estão distribuídos nas quarta e quinta décadas de vida.

O Ki 67 foi positivo em 83,69% do total da amostra e a média desse índice foi 4,39% (variação de 0 – 36,9%); entre os subtipos hormonais os AH com expressão positiva para GH, mono ou pluri-hormonais, apresentaram índice de proliferação significativamente maior em relação aos demais subtipos ($p=0,001$). Os macroadenomas funcionantes invasivos apresentaram maior índice de proliferação em relação aos macroadenomas não funcionantes invasivos ($p=0,0328$).

O p53 foi positivo em 60,65% do total da amostra e a média do índice de núcleos corados foi 1,23% (variação de 0 – 16%). Não houve diferença significativa da expressão do p53 quanto à invasão, fenótipo hormonal, *status* funcional e recidiva, entretanto houve correlação positiva entre o índice de proliferação e o p53 ($p = 0,0004$).

Quanto à angiogênese, o CD34 mostrou que a densidade microvascular (DMV) em AH é menor em relação ao tecido adeno-hipofisário normal.

A Galanina (GAL) foi positiva em 57% dos casos; os AH negativos para a GAL apresentaram índices de DMV significativamente maior em relação aos GAL positivos ($p = 0,0464$).

A imunoreação para menin foi positiva em 41 AH (67,21%), e negativa em 20 AH (32,7%). A grande variedade de expressão de menin, tanto na intensidade da coloração quanto na localização nuclear ou citoplasmática, dificultou a interpretação dos resultados, sendo necessários estudos genéticos comparativos que possam orientar essa interpretação dos dados obtidos.

Conclusões

A maior frequência de AH não funcionantes desta amostra pode estar relacionada ao diagnóstico tardio.

A expressão do Ki 67 não se associou à gradação de Hardy.

Os macroadenomas funcionantes e invasivos apresentaram índice de proliferação maior do que os não funcionantes, podendo indicar comportamento mais agressivo.

Entre os diferentes subgrupos de AH apenas os que expressaram positividade para GH apresentaram índice de proliferação significativamente maior.

A invasão nos AH ≥ 10 mm, que apresentaram índice de proliferação igual a zero, não é dependente da atividade proliferativa.

A maior expressão do p53 se correlacionou com o maior índice de proliferação (Ki 67) nesta amostra.

O p53, a DMV e GAL não são marcadores de prognóstico nos AH.

Os índices mais elevados da DMV em AH com ausência de expressão da GAL, podem indicar comportamento biológico mais agressivo.

ABSTRACT

Introduction

Pituitary Adenomas (PA) are an easily identifiable and benign epithelial neoplasia. They are clinically detected through symptoms of an increased or decreased hormone rate and/or alterations of intra-cranial mass. They are classed in accordance with radiological / macroscopical aspects (macro versus microadenoma / invasive versus non-invasive), functional status (functional versus non-functional), cytological (acidophil, basophilic and chromophobic) and immunohistochemical / ultra-structural (somatotrophinomas, prolactinomas, corticotrophinomas, thyrotrophinomas, gonadotrophinomas and those from null cells).

Amongst their various forms of disclosure, evolution, and clinical manifestation, invasive adenomas and non-invasive macroadenomas impose limits to surgical procedures, resulting in recidivist determination of endocrine and / or neurological morbidity.

Aggressive and non-aggressive variants may display similar histological aspects, which require immunohistochemical, genetic and molecular-biological investigation, attempting to relate tumorigenesis mechanisms to the biological behavior of these tumors, such as invasive growth and recurrence.

Objectives

Classification and study of the occurrence of the sampled PA under a functional viewpoint based upon clinical symptomatology;

Neuro-radiological / anatomic classification based upon tumor size and invasive rate through the *Jules Hardy* labeling index;

Analysis and classification of the occurrence of hormonal subtypes, through the immunohistochemical method;

Co-relate clinical, anatomical, and immunohistochemical data with the aggressivity of the PA, seeking prognostic factors using proliferous activity markers (Ki 67), suppressive tumorous gene alteration (p53 and menin), angiogenesis (CD 34) and neuropeptide (galanin).

Materials and Methods

61 PA patients who had undergone surgical re-section were studied: clinical, anatomical / neurological, and immunohistochemical aspects were considered. The immunohistochemical technique was used to determine the different hormonal subtypes, and for the Ki 67 as a proliferation marker, the p53 and menin as a tumor suppression marker, CD34 for the assessment of the angiogenesis, and galanin to observe the presence of this neuropeptide.

Results

The sample contains 57 (93.4% macro-adenomas (19 invasive and 38 non-invasive) and 4 non-invasive microadenomas; the invasion rate equaled 62.3%.

Twenty-five (41%) PA are clinically functional (13 somatotrophinomas, 6 prolactinomas, 6 corticotrophinomas) and 36 (59%) non-functional (32 PA silenced and 4 null cells).

Invasive, non-functional macroadenomas stood out when compared to invasive, functional macroadenomas ($p=0.014$). 54.09% recidivists were detected.

Immunohistochemistry revealed positive expression of the growth hormone (GH) in 18 PA, 10 PA expressed prolactin (PRL), 12 showed positive for corticotrophin (ACTH), 17 for gonadotrophin, and 4 PA showed negative for all hormones.

Endocrine symptomatology occurred in 42.62% of the cases, and neurological symptoms were present in 88%. Male and female patients were affected indistinctly, and most PA patients were in their 40s and 50s.

Ki 67 was positive in 83.69% of the total sampled, rating at an average of 4.39% (varying from 0 – 36.9%); amongst hormonal subtypes, PA showing positive expression of GH (mono or plurihormonal) had a significantly increased proliferative activity when compared to other subtypes ($p=0.001$). Invasive, functional macroadenomas showed a higher proliferation rate than invasive, non-functional macroadenomas ($p=0.0328$).

p53 was positive in 60.65% of the total sampled, and the average rate of dyed nuclei equaled 1.23% (varying from 0 – 16%). There was no meaningful change in the expression of p53 as to the invasion, hormonal phenotype, functional and recidivist status. However, a positive co-relation between the proliferation rate and the p53 was detected ($p=0.0004$).

Concerning the angiogenesis, CD34 showed that the microvascular density (MVD) in PA is lower when compared to the healthy adenohypophysial tissue.

Galanin (GAL) was positive in 57% of the cases. The PA negative for GAL showed significantly increased MVD rates than the GAL positive ($p=0.0464$).

Immunoreaction for menin was positive in 41 PA (67.21%) and negative in 20 PA (32.7%). The large variety of menin expression, regarding chromatic intensity and cytoplasmic or nuclear location made the interpretation of the results more difficult, which required comparative genetic studies that could guide the understanding of the data obtained.

Conclusions

Higher rates of non-functional PA cases may be a result of late diagnosis.

Ki 67 expression could not be linked to the *Hardy* index.

Invasive, functional macro-adenomas showed a higher proliferation rate than the rate obtained from the non-functional types – which may signal increased aggressivity.

Amongst the various PA subgroups, only those with GH positive expression had a significantly higher proliferation rate.

The invasion of PA ≥ 10 mm, whose proliferation rate was null, is not dependent on proliferative activity.

In this sample, the largest p53 expression matched the highest proliferation rate (Ki 67).

p53, MVD and GAL are not PA prognostic markers.

The highest MVD rates among PA combined with a null GAL expression may indicate more aggressive biological behavior.

INTRODUÇÃO

Relações anatômicas

A hipófise, glândula de secreção interna de pequenas dimensões, pesa cerca de 0,6g e mede 12x9x6mm (MAFFEI, 1967; ASA, et al 2001; CHEUNG & ASA, 2001); de forma ovóide, eixo transversal predominante, pendente da região central da base do cérebro, presa ao assoalho do terceiro ventrículo, o tuber cinereum, por uma haste que é o pedúnculo da hipófise(MAFFEI,1967). Essa região do encéfalo constitui a superfície ventral do hipotálamo, faz parte do diencefalo e abriga várias formações: o quiasma óptico com os nervos e tractos ópticos na região ântero-superior; imediatamente atrás está o tuber cinereum, onde existem centros vegetativos que regulam o metabolismo da água, hidratos de carbono, proteínas e do metabolismo total, bem como a termo-regulação, sudorese, regulação do sono e da vigília. Logo depois estão os corpos mamilares que são centros olfativos. Lateralmente e para trás estão os pedúnculos cerebrais, parte do mesencéfalo (MAFFEI, 1967). (Figura 1)

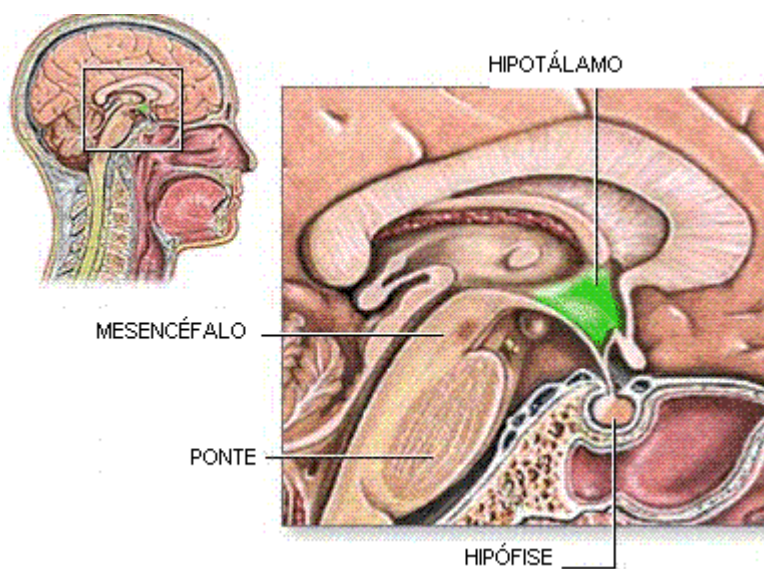


Figura 1- Relações anatômicas da hipófise

Fonte: www.nlm.nih.gov/medlineplus

Todas essas formações estão cobertas pela aracnóide que passa como uma ponte, formando as cisternas quiasmática e interpeduncular (MAFFEI, 1967).

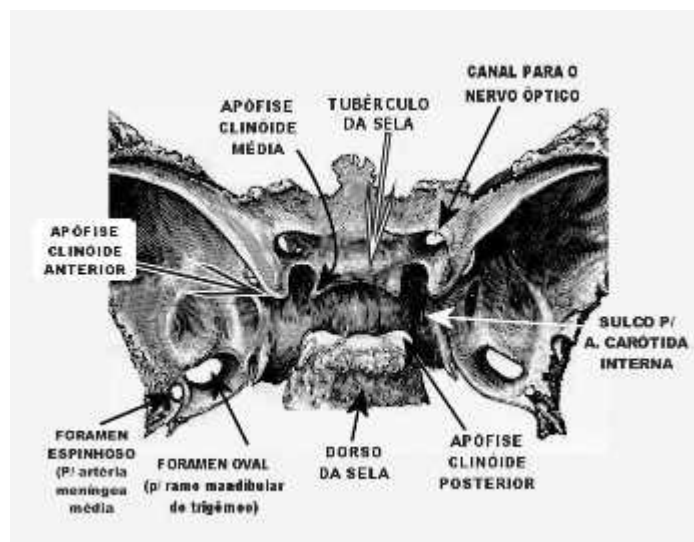


Figura 2- Relações anatômicas da Hipófise

Fonte: www.fcm.unicamp.br/anapat/

Está contida na fossa pituitária do corpo do esfenóide denominada sela túrcica que é revestida pela dura-máter desdobrada, de modo que, um dos folhetos forra o assoalho da fossa e o outro, fixada aos processos clinóides, que fecha superiormente a fossa, constituindo o diafragma da sela (ASA, et al 2001). O pedículo hipofisário e seus vasos sanguíneos atravessam uma abertura nesse diafragma (ARON, et al 2000). A membrana aracnóide e, portanto, o líquido cérebro-espinhal são impedidos de entrar na sela túrcica pelo diafragma da sela (ARON, et al 2000). O quiasma óptico situa-se a 5-10 mm acima do diafragma da sela e anterior ao pedículo. A porção anterior do esfenóide, o tubérculo da sela, é flanqueada por projeções posteriores das asas do esfenóide, os processos clinóides anteriores; o dorso da sela forma a parede posterior, e seus ângulos superiores projetam-se para os processos clinóides posteriores (ARON et al, 2000) (Figura 2).

Está envolta em cápsula fibrosa densa. As paredes laterais da glândula estão em aposição direta com os seios cavernosos; um leito circunferencial de tecido conjuntivo frouxo separa a cápsula hipofisária do conteúdo vascular e nervoso desse mesmo seio. O

tecido conjuntivo denso, ao redor da hipófise, estendido dentro do seio cavernoso, contém numerosos canais venosos e artérias capsulares hipofisárias. Há uma extensa comunicação entre os dois seios cavernosos, incompletamente separados pela cápsula glandular (DIETMANN, et al 1998). Finalmente na região antero - inferior está o seio esfenóide (ARON et al, 2000).(Figura 3)

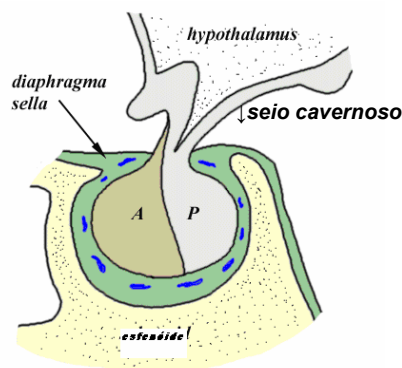


Figura 3- Relações anatômicas da hipófise

Fonte: www.med.mun.ca/anatomyts/head/endo

Tendo dupla estrutura - epitelial e nervosa - têm igualmente dupla origem embrionária - do epitélio bucal e do tubo neural (MAFFEI, 1967; ASA et al 2001).

Aumenta de volume durante a gestação e embora involua quando cessa a amamentação, o aumento não é completamente reversível e pode pesar 1g ou mais em mulheres multíparas (ASA, et al 2001).

Assim, a glândula mais importante do nosso organismo, é formada de duas partes anatômica e funcionalmente distintas (MAFFEI, 1967; ASA, et al 2001; CHEUNG, & ASA, 2001; BURROWS, et al 1999):

1 - Adeno-hipófise, hipófise anterior, lobo anterior ou lobus glandularis, e

2- Neuro-hipófise, hipófise posterior ou lobo posterior.

Organogênese

A adeno-hipófise é embriologicamente derivada de um espessamento da ectoderme da orofaringe que evagina para formar a bolsa de Rathke e que posteriormente se separa da ectoderme oral e migra para unir-se a neuro-hipófise (Figura 4) (MAFFEI, 1967; ASA, et al 2001; OOI, et al 2004).

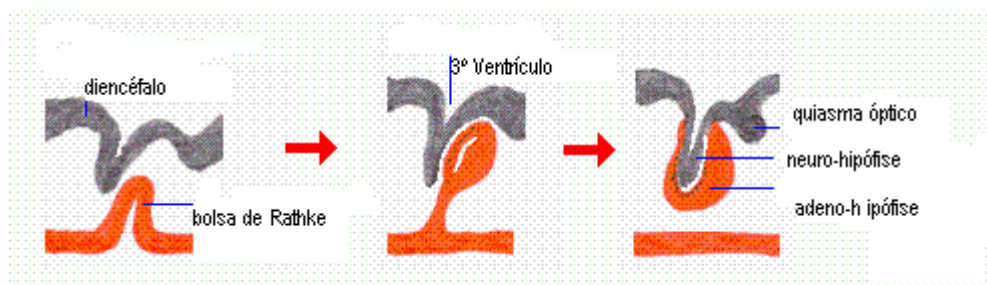


Figura 4- Desenvolvimento embrionário

Fonte: www.vivo.colostate.edu/.../hypopit/rathke.gif

As células da porção anterior da bolsa de Rathke proliferam, para originar o lobo anterior ou *pars distalis* (BURROWS, et al 1999)(figura 5). A porção da bolsa de Rathke em contacto com a neuro-hipófise, se desenvolve menos extensamente e forma o lobo intermediário ou *pars intermedia*. Esse lobo, em seres humanos, tem células interpostas com as células do lobo anterior e desenvolvem a capacidade de sintetizar pró-opiomelanocortina e ACTH (ARON, et al 2000; BURROWS, et al 1999).

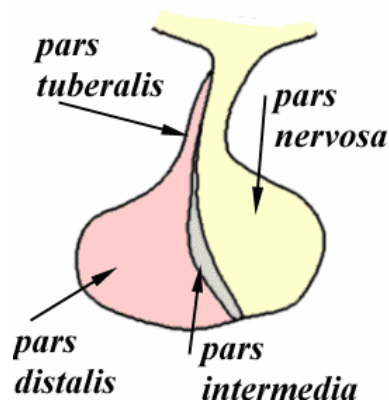


Figura 5- Desenvolvimento embrionário

Fonte: www.med.mun.ca/anatomyts/head/endo

A neuro-hipófise é desenvolvida a partir da ectoderme neural do assoalho do prosencéfalo (BURROWS, et al 1999). O desenvolvimento embrionário é caracterizado por sequenciamento temporal e fenotípico específico para cada célula adeno-hipofisária. Nesse processo estão implicados fatores de transcrição que desempenham função chave no desenvolvimento e citodiferenciação e também na organogênese (ASA et al 2001).

A formação da bolsa de Rathke é precedida por expressão de genes homeobox.

O reconhecimento dos determinantes moleculares da citodiferenciação hipofisária tem esclarecido os quadros de pluri-hormonalidade encontrados em alguns adenomas, e fornecem subsídios para a classificação desses tumores (ASA et al, 2001).

Uma variedade de técnicas foi usada para entender quão cedo células precursoras diferenciam-se para formar os cinco tipos celulares que ocupam o lobo anterior adulto. Essas células surgem em ordem seqüencial, sendo que os corticotrofos são os primeiros a aparecerem, seguidos dos tireotrofos, somatotrofos, lactotrofos e finalmente os gonadotrofos (OOI et al, 2004).

Corticotrofos diferem embriologicamente das demais linhagens, porque derivam do lobo intermediário (OOI et al 2004); surgem precocemente, diretamente do primórdio da hipófise anterior (BURROWS et al, 1999; OOI et al, 2004).

O primeiro gene que codifica um hormônio hipofisário, expresso durante o desenvolvimento é α GSU. O α GSU é a subunidade comum do hormônio glicoproteico TSH, hormônio luteinizante e folículo-estimulante, cuja atividade biológica é ditada por suas subunidades β (OOI et al, 2004).

A deleção do gene homeobox Gsh1, altera a produção do hormônio liberador de GH (GHRH), conduzindo a uma falha de diferenciação de somatotrofos e lactotrofos. Como essa mutação afeta passos específicos no processo de desenvolvimento, esses fenótipos dão consistência ao fato de somatotrofos e lactotrofos derivar de um mesmo precursor, o mamosomatotrofo (BURROWS et al, 1999).

Tireotrofos estão associados à linhagem dos somatotrofos e lactotrofos. Surgem através de duas raízes, sendo que a linhagem relacionada aos somatotrofos e lactotrofos parece ser a mais importante para a formação de hormônios (BURROWS et al, 1999).

Cada tipo celular pode habitar o órgão e funcionar na ausência de outros tipos celulares, exceto os lactotrofos, os quais têm forte dependência dos somatotrofos (BURROWS et al, 1999).

Sob certas condições fisiológicas, somatotrofos parecem poder tornar-se tirosomatotrofos e somatomamotrofos, o que sugere que essa plasticidade permite adaptações, e que a especialização celular é processo dinâmico. Em diferentes situações experimentais, funções defeituosas de tireotrofos, aparentemente, resultaram em recrutamento de somatotrofos para a produção de TSH.

Algumas outras relações entre linhagens celulares são sugeridas, a partir da existência de células multi-hormonais na hipófise normal, ou quando a produção multi-hormonal celular é induzida por estímulos, como em trabalhos experimentais em ratos, usando propiltiouracil (BURROWS et al, 1999).

Hipotireoidismo induzido em ratos pelo propiltiouracil causou aparecimento de tirosomatotrofos. Após a suspensão do tratamento com o propiltiouracil, essas células aparentemente reverteram para a expressão de GH em duas semanas (HORVATH et al, 1990).

Em ratos com alteração do gene α GSU, a falta de secreção de TSH determina hipotireoidismo e hiperplasia de tireotrofos; essa proliferação parece ocorrer às custas de somatotrofos e lactotrofos, porque nota-se a redução em número dessas células. E, ainda, reposição hormonal em ratos com ausência de células α GSU, mostram que a triiodotironina (T3) é crucial para que ocorra a diferenciação de somatotrofos e lactotrofos, revelando uma dependência indireta dos somatotrofos e lactotrofos à função dos tireotrofos (BURROWS et al, 1999).

Experimentos, onde é feita ablação dos gonadotrofos, mostram desenvolvimento normal de tireotrofos e das demais células da adeno-hipófise, sugerindo que gonadotrofos não são necessários para a diferenciação dos demais tipos celulares (BURROWS et al, 1999).

Fisiologia

A atividade das células hipofisárias e a emissão de seus hormônios para o sangue estão sob o controle dos centros nervosos situados no hipotálamo, na base do cérebro (ARON et al, 2000,).

Green & Harris, há mais de 50 anos, revelaram a teoria da regulação da adeno-hipófise pelos hormônios hipotalâmicos através do sistema portal-hipofisário. Desde então, ficou bem demonstrado que, os hormônios inibidores e liberadores hipotalâmicos são levados da eminência mediana para o sistema portal, e transportados pela via sanguínea dos vasos portais para a adeno-hipófise (LOPEZ et al, 1991) (Figura 6).

A relação entre as duas estruturas se faz por intermédio de substâncias químicas, os fatores de liberação, ou *releasing factors*, secretados por prolongamentos neurais do hipotálamo (DAUGHADAY et al, 1988).

Os dois mecanismos principais de regulação neural da função endócrina são a inervação direta e neurosecreção (secreção neural de hormônios).

Um exemplo de regulação neurosecretora é a secreção hormonal de alguns núcleos hipotalâmicos para os vasos porta-hipofisários, que regulam as células secretoras de hormônio do lobo anterior da hipófise. Outro exemplo de regulação neurosecretora é o lobo posterior da hipófise, constituído das terminações de neurônios cujos corpos celulares residem em núcleos hipotalâmicos (ARON et al, 2000).

O hipotálamo e a hipófise formam uma unidade que exerce controle sobre a função de várias glândulas endócrinas – tireóide, supra- renais e gônadas -, assim como uma grande variedade de atividades fisiológicas (MAFFEI, 1967; ARON et al, 2000). Esta unidade constitui um paradigma da neuroendocrinologia-interações cerebroendócrinas. As ações e interações dos sistemas nervoso e endócrino, pelos quais o sistema nervoso regula o sistema endócrino e a atividade endócrina que modula a atividade do sistema nervoso central, constituem os principais mecanismos reguladores de praticamente todas as atividades fisiológicas. O sistema imune também interage com os sistemas endócrino e nervoso. Tais interações neuroendócrinas também são importantes na fisiopatologia das doenças (ARON et al, 2000,).

Células nervosas e células glandulares endócrinas, envolvidas na comunicação célula a célula, possuem alguns aspectos característicos em comum – secreção de mensageiros químicos (neurotransmissores ou hormônios) e atividade elétrica. Um mensageiro químico único – peptídeo ou amina – pode ser secretado por neurônios como um neurotransmissor ou hormônio neural, e por células glandulares endócrinas como um hormônio clássico.

A comunicação célula a célula pode ocorrer por quatro mecanismos: 1) comunicação neural através de junções sinápticas; 2) comunicação endócrina através de hormônios circulantes; 3) comunicação parácrina através de mensageiros que se difundem no líquido intersticial para as células-alvo adjacentes (sem entrar na corrente sanguínea); 4) comunicação autócrina através de mensageiros que se difundem no líquido intersticial, atuando sobre as células que os secretaram (ARON et al, 2000,).

Recentemente, vários peptídeos e proteínas, tais como leptina, neurotensina, substância P, neuropeptídeo Y, galanina, opióides endógenos, fatores de crescimento, citocinas, bombesina similares e outros, têm sido encontrados na hipófise. Estas substâncias

são sintetizadas localmente, assim como seus receptores (LIU, 2004). Entretanto, o papel funcional destes peptídeos encontrados na adeno-hipófise, na maioria das vezes ainda é desconhecido.

A inervação da hipófise é objeto de estudo desde 1817, quando Bock descreveu finas fibras nervosas partindo do gânglio cervical superior e que seguiam ao longo de um ramo arterial hipofisário, confirmado por outros autores, usando a impregnação pela prata. Admitiu-se que existiria um pequeno número de fibras simpáticas na adeno-hipófise e essas fibras teriam pouca ou nenhuma conexão com a função secretora da glândula. Fibras parassimpáticas poderiam existir, mas a função dessas fibras nervosas era duvidosa (LIU, 2004).

Trabalhos experimentais recentes, usando técnica imunoistoquímica, têm repetidamente demonstrado a presença de fibras nervosas na *pars tuberalis* e na *pars intermédia* da adeno-hipófise, em íntimo contacto com as células glandulares. Quantidades consideráveis de substância P(SP), gene relacionado ao peptídeo calcitonina (CGRP), fibras nervosas imunoreativas da galanina (GAL), foram demonstradas na *pars distalis* da adeno-hipófise de macacos, cães e ratos, oferecendo evidências da presença de fibras nervosas peptidérgicas de três tipos na adeno-hipófise, o que sugere que SP, CGRP e GAL participam da regulação das funções da adeno-hipófise (LIU, 2004).

A origem dessas fibras nervosas peptidérgicas na adeno-hipófise permanece obscura. Porém, a presença de grande número de fibras nervosas SP, CGRP e GAL na eminência mediana, (Figura 6), que continuam no pedículo da hipófise entre os vasos portais, e seguem até o interior da *pars distalis*, sugere que o hipotálamo pode ser um dos locais de origem dessas fibras peptidérgicas (LIU, 2004).

A existência de um número substancial dessas fibras, e sua proximidade com as células glandulares, sugere regulação neural direta na função da adeno-hipófise humana. É possível que a adeno-hipófise seja regulada via vasos portais, e também pelas fibras nervosas peptidérgicas diretamente. Esse fato, aparentemente, demonstra que o mecanismo de regulação da adeno-hipófise é mais complexo do que acreditávamos originalmente (LIU, 2004). É possível que um novo conceito de dupla regulação da adeno-hipófise, por

fatores neurais diretos assim como através da via sanguínea, possa ser estabelecido (INVITTI et al, 1999; LIU, 2004).

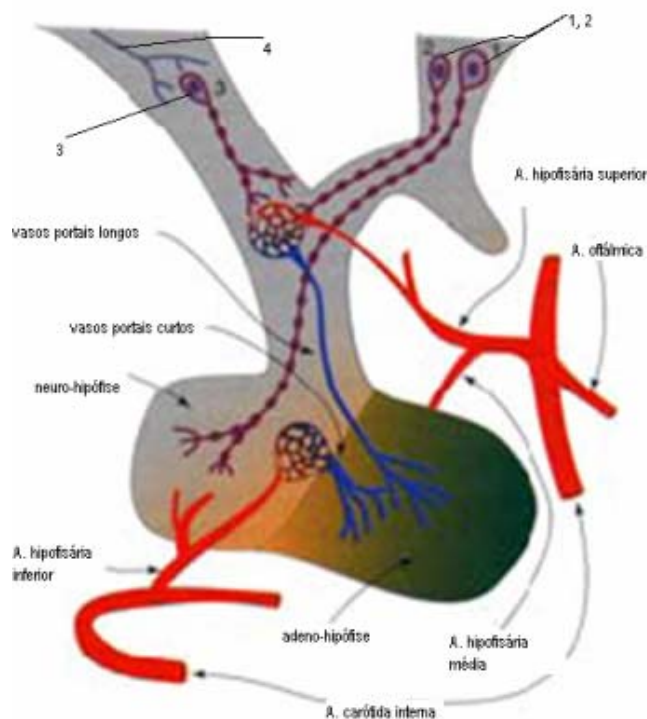


Figura 6- Conexões hipotálamo-hipofisárias

Fonte: Zigmond et al.,1999.Fundamental Neuroscience

Legenda: 1,2: Neurônios peptidérgicos que liberam ocitocina ou vasopressina na circulação geral; 3: Neurônios peptidérgicos que sintetizam e liberam hormônios na circulação portal hipofisária; 4: Neurônios que interconectam fibras peptidérgicas com resto do SNC.

Tatemoto e Mutt identificaram a Galanina (GAL) como um neuropeptídeo, no trato gastrointestinal de suínos, em 1983, no Instituto Karolinska de Estocolmo. Desvendando a seqüência de aminoácidos, atribuíram o nome GAL a esse neuropeptídeo, porque glicina e alanina constituem, respectivamente, o primeiro e o último aminoácido da cadeia (TATEMOTO et al, 1983).

A GAL humana difere da bovina, suína e de roedores. Contém 29 aminoácidos em muitas espécies, enquanto a humana contém 30 aminoácidos. Os primeiros 15 aminoácidos N-terminal, estão conservados através das espécies (CRAWLEY, 1995).

Trabalhos subseqüentes ao de TATEMOTO e MUTT, 1983, resultaram na clonagem do gene da GAL do rato (obtido da hipófise anterior e hipotálamo) e na demonstração da sua sensibilidade ao estrógeno (GRENBACK et al, 2004).

O gene prepo-Galanina está localizado na região proximal do braço longo do cromossomo 11. Evans and Shine, 1991, localizaram-na no cromossomo locus 11q13.3-q13.5.

Estrógenos conduzem a um aumento na expressão da GAL na hipófise anterior, em modelos fisiológicos e farmacológicos. A indução da expressão da GAL por estrógenos na hipófise é mediada por receptores estrogênicos, como demonstrado em experimentos *in vitro*, nos quais o receptor antagonista de estrógeno, o tamoxifeno, administrado simultaneamente com 17 β -estradiol, determina a abolição da elevação dos níveis de mRNA GAL estrógeno- induzidos(PONCHON et al, 2000).

Vrontakis et al 1987, administrando altas doses de estrogênio em ratos Fisher, induziram o desenvolvimento de prolactinomas de onde foi isolada uma proteína com 29 aminoácidos cuja seqüência é homóloga à GAL suína.

GAL é um regulador fisiológico da secreção pulsátil espontânea de GH no rato macho (PIROLI et al 2004). Estudos encontraram mRNA GAL em células da adeno-hipófise, indicando que os adenócitos podem sintetizar GAL, e ainda que, GAL pode vir do hipotálamo via vasos portais e de adenócitos na adeno-hipófise (INVITTI, et al 1999).

Há ainda evidências que a GAL participa na modulação da resposta do eixo hipotálamo hipofisário ao *stress*, assim como da patogenia dos adenomas hipofisários (Tortorella C et al 2007).

Anatomia microscópica

- Hipófise anterior, adeno-hipófise ou lobus glandularis

Constitui 80% da glândula total e está constituída da:

- *Pars distalis (pars anterior, lobo anterior)*, a maior e sob o ponto de vista funcional, a parte mais importante da adeno-hipófise.
- *Pars intermédia (lobo intermediário, zona intermédia)*, estrutura rudimentar, sem significância endócrina aparente. Posiciona-se entre o lobo anterior e posterior e consiste de poucas cavidades císticas, cheias de colóide e revestidas por epitélio cubóide.
- *Pars tuberalis (pars infundibularis, pars proximalis)*, extensão superior da *pars distalis*. Composta pôr algumas fileiras de células cromóforas intercaladas com células acidófilas e basófilas ocasionais. Essa porção não é importante na secreção da adeno-hipófise, embora as técnicas imunoistoquímicas demonstrem a presença de FSH e LH no citoplasma de suas células.

Além de produzir hormônios com efeito direto sobre o organismo, a adeno-hipófise secreta os chamados hormônios tróficos (do grego trofos, nutrir, alimentar), cujo efeito é estimular e controlar o funcionamento de outras glândulas endócrinas (ASA et al, 2001).

Pars distalis

As suas células são divididas em cromófilas (acidófilas e basófilas), e cromóforas. Mas, de acordo com os métodos imunoistoquímicos, que se baseiam na localização de hormônios em determinadas células, estas foram divididas em:

Somatotróficas - produtoras de somatotrofina ou hormônio do crescimento (GH).

Lactotróficas - produtoras de prolactina (PRL).

Mamosomatotróficas – produtoras de GH e PRL.

Gonadotróficas - produtoras de hormônio folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH).

Tireotróficas - produtoras de hormônio tireo-estimulante (TSH).

Corticotróficas - produtoras de hormônio corticotrófico (ACTH).

Células folículo-estreladas, que não produzem hormônio nenhum (ARON, et al 2000; CHEUNG & ASA, 2001;ASA et al, 2001; DAUGHADAY 1988; OOI et al, 2004).

Os *Somatotrofos*, produzem hormônio do crescimento (GH), são acidófilas e estão localizados nas laterais da adeno-hipófise e representam 50% da população celular. A ultraestrutura exhibe grânulos secretórios variando de 150-800nm, espalhados no citoplasma. Apresentam forte reatividade nuclear a Pit-1 (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001;OOI et al, 2004).

Os *Lactotrofos*, secretores de prolactina (PRL), são cromóforos, alongados ou poligonais, distribuídos ao acaso. Em homens e mulheres nulíparas, constituem 9% da população celular; em múltiparas podem ultrapassar 31% . A ultraestrutura mostra granulação esparsa com 150-250nm, e alongamentos que, geralmente, envolvem os gonadotrofos. Uma característica dos lactotrofos é a presença de grânulos no bordo lateral da célula, fenômeno conhecido como exocitose (ARON et al, 2000; CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; DAUGHADAY 1988 ;OOI et al, 2004).

Os *Mamosomatotrofos*, produtores de GH e PRL, assemelham-se aos somatotrofos nas colorações pelo HE. A imunohistoquímica revela a presença de GH e PRL no citoplasma. A ultraestrutura exhibe células semelhantes aos somatotrofos densamente granuladas; os grânulos variam no tamanho desde 400nm, até 2000nm. Exibem também exocitose, a marca característica de secreção de lactotrofos (ARON et al, 2000; CHEUNG & ASA, 2001;ASA et al, 2001; DAUGHADAY, 1988 ;OOI et al, 2004).

Os *Tireotrofos*, produtores de TSH, são cromóforos, de forma angular, representam aproximadamente 5% da população celular. A ultraestrutura mostra grânulos que variam no tamanho de 100-200nm, localizados na membrana plasmática. A

imunoistoquímica revela reatividade à subunidade α e β -TSH (ARON et al, 2000; CHEUNG, & ASA, 2001; ASA et al, 2001;OOI et al, 2004).

Os *Corticotrofos*, produtores de pró-opiomelanocortina e seus derivados, incluindo a adrenocorticotrofina (ACTH), melanotrofina, lipotrofina, representam 15-20% da população celular adeno-hipofisária. Essas células são basófilas e estão concentradas na região central, na margem mucóide central, e também podem ser encontradas nas laterais, lobo intermediário, e eventualmente no lobo posterior. Quando são expostas a excesso de glicocorticóides sofrem transformação reversível, conhecida como transformação hialina de Crooke. As células de Crooke exibem acúmulo de filamentos intermediários de disposição perinuclear, que rechaça para a periferia os grânulos imunoreativos ao ACTH, PAS positivos. Esses filamentos adquirem coloração para citoqueratina de baixo peso molecular (ASA et al, 2001; CHEUNG & ASA, 2001; OOI et al, 2004).

Os *Gonadotrofos*, produtores de hormônio folículo-estimulante (FSH), e hormônio luteinizante (LH), representam 10% da população celular da adeno-hipófise. Estão espalhados na *pars distalis* e *pars tuberalis*. Com o avanço da idade essas células tendem a sofrer metaplasia escamosa. A ultraestrutura mostra grânulos de secreção, espalhados no citoplasma, com 250nm em homens a 600nm em mulheres (ARON et al 2000; CHEUNG & ASA, 2001;ASA et al, 2001; DAUGHADAY 1988; OOI et al, 2004).

As *Células Folículo-estreladas* são células estromais de sustentação, que circundam os ácinos de glândula normal; são imunoreativas à proteína S100 e proteína glial fibrilar ácida (GFAP) (ASA et al, 2001; CHEUNG & ASA, 2001).

Pars intermédia

Representa o remanescente vestigial da bolsa de Rathke, composta de espaços císticos revestidos por epitélio constituído por células hormonais diversas, predominando os corticotrofos. Com o avançar da idade os corticotrofos proliferam no lobo posterior, fenômeno conhecido como invasão basófila (ASA et al, 2001).

Pars tuberalis

É a parte superior da adeno-hipófise, envolvendo o pedículo neural. Está povoada por gonadotrofos que com o avançar da idade sofrem metaplasia escamosa (ASA et al, 2001).

Hipófise posterior ou neuro-hipófise

O lobo posterior é constituído por fibras nervosas desprovidas de mielina (desmielinizadas) e por células da neuroglia. Os hormônios neuro-hipofisários são a vasopressina ou hormônio antidiurético (ADH) e a ocitocina, de estrutura parecida.

A ação do ADH se faz ao nível dos túbulos contornados distais do rim e da porção inicial do canal coletor do glomérulo renal.

A ocitocina atua na musculatura lisa dos vasos sangüíneos uterinos, nas fibras musculares uterinas e das mamas durante a lactação. (ARON et al, 2000,).

Suprimento sanguíneo

A hipófise anterior é o tecido mamífero mais ricamente vascularizado, recebendo 0,8 ml/g/minuto de uma circulação portal que conecta a eminência mediana do hipotálamo e a hipófise anterior (CHEUNG & ASA, 2001).

A adeno-hipófise não recebe perfusão arterial direta; encontra-se no exterior da barreira hemato-encefálica, o que a torna muito acessível à ação reguladora de uma grande diversidade de substâncias (CHEUNG & ASA, 2001).

A irrigação hipofisária é complexa; o sangue arterial é suprido pelas artérias carótidas internas através das artérias hipofisárias superior, média e inferior. A artéria hipofisária superior se ramifica em uma primeira rede de capilares situada na eminência média do hipotálamo, constituída por arteríolas terminais retas e curtas com paredes musculares rodeadas por rede capilar densa, que se continua nas veias portais longas, que

drenam pela haste hipofisária para o lobo anterior, continuando em outra rede capilar e formam novamente canais venosos. A haste hipofisária e a hipófise posterior são supridas diretamente por ramos das artérias hipofisárias média e inferior (CHEUNG & ASA, 2001)

A adeno-hipófise recebe, também, sangue através das veias portais curtas, oriundas dos plexos capilares da artéria hipofisária inferior (na neuro-hipófise) (ASA, et al, 2001). A drenagem venosa da hipófise, a via através da qual os hormônios hipofisários alcançam a circulação sistêmica, é variável, mas os canais venosos finalmente drenam através do seio cavernoso, posteriormente até os seios petrosos superior e inferior até o bulbo e as veias jugulares (CHEUNG & ASA, 2001).

Adenomas hipofisários

Os adenomas hipofisários (AH) são os tumores primários mais freqüentes da região selar; de comportamento benigno, surgem e são constituídos de células adeno-hipofisárias. Geralmente apresentam crescimento lento, permanecendo confinados na sela túrcica, entretanto podem ser invasivos, exibindo crescimento mais rápido, comprometendo tecidos vizinhos (KOVACS et al, 2001).

Essas neoplasias são caracterizadas por um amplo espectro biológico-comportamental, relacionado não apenas à atividade hormonal, como também à atividade proliferativa (KUJAS, 2001).

Os AH são usualmente esporádicos, porém casos familiares ocorrem em associação com síndromes familiares como o Complexo de Carney, Neoplasias Endócrinas Múltiplas (MEN-1) e mais raramente AH familiares isolados, não relacionados à essas síndromes. (DALY AF e al, 2006).

Aspectos clínicos

Muitos desses tumores estão associados com síndromes clínicas de excesso, ou com redução da secreção hormonal, denominados funcionantes.

As entidades clínicas incluem acromegalia ou gigantismo, amenorréia-galactorréia, síndrome de Cushing, hipertireoidismo, hipopituitarismo, impotência sexual.

Sintomas decorrentes do efeito de massa intracraniana podem manifestar-se como alterações visuais, cefaléia, hipertensão intracraniana, paralisia de nervos cranianos e hidrocefalia quando o tumor avança até o III ventrículo. A apoplexia pode ocorrer como complicação da invasão do seio cavernoso, acompanhada de oftalmoplegia por comprometimento do II, IV ou VI par craniano (IRONSIDE, 2003).

Laboratorialmente a estimulação específica e testes de supressão para hormônios hipofisários, são realizados em situações seletivas, para estudar a função hipofisária, o tipo de hipersecreção ou a resposta ao tratamento (IRONSIDE, 2003).

Um terço dos AH são classificados clinicamente como adenomas não funcionantes porque não se associam a evidências clínicas ou bioquímicas de hipersecreção hormonal.

Aspectos neuroradiológicos

Os exames radiológicos pelo raio-X plano, representaram por muitos anos a base do diagnóstico anatômico das lesões da região da hipófise, demonstrando o aumento da sela túrcica ou erosão da estrutura óssea ao redor da região hipofisária.

Jules Hardy elaborou a primeira classificação dos AH em 1969, baseada nas imagens radiológicas, que é utilizada até os dias atuais, validada pela tomografia computadorizada e ressonância magnética.











Sela Túrcica - Classificação Radiológica		Extensão extraselar				
		Supraselar		Paraselar		
		A	B	C	D	E
G 0 (normal)						
G I						
G II						
G III						
G VI						

Figura 7- Representação esquemática da classificação de Hardy para os Adenomas hipofisários: Graus I e II restritos à sela. Graus III e IV invasivos. Fonte: Neoplasms of the Endocrine Glands: Pituitary Neoplasms Chirag D. Gandhi and Kalmon D. Post (2003).

Avanços em diagnóstico por neuroimagem têm aumentado a sensibilidade da detecção de pequenas lesões na hipófise. A tomografia computadorizada auxilia quando as lesões são intra-selares e quando há erosão da estrutura óssea ao redor da hipófise. A ressonância magnética com Gadolinium endovenoso suplantou a tomografia computadorizada, pela melhor resolução, detectando rotineiramente lesões com 2-3 mm, distorções da haste hipofisária, posição das artérias carótidas, quiasma óptico e seio cavernoso; permite a visualização de margens, definindo o tamanho e invasão das estruturas adjacentes ao tumor. A técnica desse procedimento, consiste em cortes coronais de 3 mm com a administração do contraste Gadolinium endovenoso.

A invasão macroscópica dos tecidos paraselares, definida pelos achados radiológicos, ou neurocirúrgicos é considerada um consistente indicador prognóstico (IRONSIDE, 2003).

Aspectos anátomo-patológicos

A antiga classificação histológica, baseada em afinidades tintoriais do citoplasma das células, dividiu os adenomas em **cromófbos, acidófilos e basófilos**. Tumores cromófbos eram os tumores inativos, não secretantes, sem sintomatologia de excesso hormonal; os acidófilos produziram GH, ligados a gigantismo e acromegalia, e adenomas basófilos eram os secretores de ACTH ligados à síndrome de Cushing. Essa classificação de valor limitado, pouco informava sobre a atividade funcional, ou sobre o(s) tipo(s) de hormônio(s) produzido pelos adenomas (ASA & EZZAT, 1998; KOVACS et al, 2001).

Aspectos imunoistoquímicos

O advento da imunoistoquímica mudou esse aspecto, sendo que o uso dessa técnica na identificação dos hormônios produzidos no citoplasma das células tumorais esclarece a atividade funcional da maioria dos adenomas, e tornou-se o padrão ouro no diagnóstico dos AH (CHEUNG & ASA, 2001; KONTOGEORGOS, 2006a).

A maioria dos adenomas mostra reação imunoistoquímica positiva a pelo menos um hormônio, e freqüentemente outros hormônios podem estar presentes em quantidade variável no citoplasma dessas células (CHEUNG & ASA, 2001). Muitos dos adenomas secretam dois hormônios, mais freqüentemente GH e PRL, e são associados a desordens funcionais, ou seja, são funcionantes. Por outro lado há os AH clinicamente não funcionantes, que constituem 1/3 dos AH em pacientes sem evidência clínica de hipersecreção hormonal, mas que podem apresentar produção celular de algum hormônio, apontada pela imunoistoquímica. Os exemplos são adenomas somatotróficos, lactotróficos, corticotróficos e gonadotróficos silenciosos, bem como os do tipo de células nulas (null cell), composto de células sem diferenciação (OSAMURA, et al 2000). Os adenomas silenciosos podem exibir sinais imunoistoquímicos ou ultraestruturais de diferenciação podendo, morfológicamente, ser classificados de acordo com a expressão hormonal.

Os adenomas pluri-homonais têm sido cada vez mais diagnosticados com o uso sistemático da imunoistoquímica. Os pacientes podem apresentar manifestações clínicas não usuais como acromegalia/gigantismo e hipertireoidismo, hipertireoidismo e hiperprolactinemia, síndrome de Cushing em associação com excesso de GH, PRL, TSH ou

gonadotrofinas. Do ponto de vista morfológico e imunoistoquímico esses adenomas pluri-homonais podem ser constituídos de um único tipo celular capaz de produzir vários hormônios (monomórficos) ou de dois ou mais tipos celulares com perfil imunoistoquímico diferente (plurimórficos) (KOVACS et al, 2001).

A imunoistoquímica pode identificar também elementos estruturais e componentes do citoesqueleto, como filamentos de queratina e mitocôndrias, o que antigamente só era possível com a microscopia eletrônica. A imunoistoquímica para subunidades α e β de hormônios glicoproteicos, revela a forma polar das células do adenoma e seus processos citoplasmáticos. Anticorpos contra queratina de baixo peso molecular (queratina 8) revelam corpos fibrosos, que representam uma característica dos somatotropinomas esparsamente granulados. Corpos fibrosos associados com mitocôndrias gigantes e exocitose representam uma marca diagnóstica dos adenomas eosinófilos de células imaturas, enquanto pequenos corpos fibrosos estão presentes em adenomas mamosomatotróficos. A queratina 8 revela ainda a configuração estrelada das células foliculo-estreladas, arrançadas ao redor dos sinusóides. A imunoistoquímica para citoqueratina de baixo peso molecular identifica facilmente os depósitos hialinos de Crooke, uma característica de corticotrofos. Os anticorpos antimitocôndria podem revelar a abundância em mitocôndrias no citoplasma do adenoma de células nulas com transformação oncocítica e adenomas gonadotróficos (KONTOGEOGOS, 2006a).

Marcadores tumorais oferecem dados objetivos para predizer o comportamento biológico do tumor e guiar a terapêutica adequada. A utilidade do Ki-67 é largamente relatada na edição recente da Organização Mundial da Saúde (OMS), correlacionando o índice de positividade com o grau de invasão e possibilidade da reincidência tumoral (WHO, 2004). Em AH agressivos, o Ki 67 representa uma alternativa para avaliar a proliferação tumoral. Na classificação dos AH de 2004 da OMS, o índice de Ki 67 representa indicador prognóstico para os AH, assim como a expressão do p53. Adenomas com expressão positiva para Ki 67 $\geq 3\%$ das células tumorais e extensa imunoreatividade para p53 são classificados como adenomas atípicos. Essas características estão usualmente ausentes em adenomas não invasivos e presentes em quase todos os carcinomas hipofisários. Tumores com essas características, que não apresentam metástases detectadas, devem ser designados como adenomas atípicos (WHO 2004).

Aspectos ultraestruturais

Os estudos ultraestruturais permitiram a observação de grânulos secretórios característicos para cada tipo de hormônio.

A microscopia eletrônica tem papel crucial no reconhecimento e individualização de entidades com o mesmo perfil imunoistoquímico (HORVATH, 1994). Antes do uso da técnica imunoistoquímica, a avaliação dos caracteres ultraestruturais gerais e identificação de marcadores estruturais permitiu o diagnóstico conclusivo na maioria dos AH.

As derivações celulares permanecem duvidosas em muitos adenomas clinicamente não funcionantes, com nenhum ou com insuficiência de marcadores e pouco desenvolvimento da organização citoplasmática, associada à baixa atividade endócrina (HORVATH, 1994).

O diagnóstico ultraestrutural é facilitado consideravelmente por dois tipos de marcadores estruturais presentes na maioria dos tipos de adenomas:

- organelas marcadoras - componentes presentes em todo o citoplasma (retículo endoplásmico rugoso, aparelho de Golgi, mitocôndrias) representadas com morfologia e arranjo específico;
- marcadores especiais - são usualmente restritos a tipos específicos de células hipofisárias, aos seus tumores ou a ambos (agregados filamentosos, morfologia particular de grânulos de secreção, etc.).

Classificação dos adenomas hipofisários

A literatura apresenta uma rica variedade de estudos genéticos, citogenéticos, de biologia molecular, relatos sobre histologia, ultraestrutura, imunoistoquímica, mas, com pouco consenso na identificação de caracteres prognósticos para adenomas hipofisários, particularmente em relação à invasão.

A identificação dos tipos tumorais requer estudo clínico, radiológico, bioquímico, histológico, ultraestrutural e imunoistoquímico. A classificação mais detalhada dos AH é baseada na correlação entre morfologia, produção hormonal, características ultraestruturais, genéticas, clínicas e bioquímicas (ASA & EZZAT, 1998).

As classificações de tumores nunca são perfeitas e nunca definitivas; elas geralmente mudam, assim que novos fatos são acumulados (KOVACS, 2006). A recente classificação dos tumores hipofisários da OMS – 2004, adotada pelos especialistas da área estará, provavelmente, ultrapassada em um futuro próximo (KOVACS, 2006). Nessa classificação, a definição de carcinoma hipofisário é certamente insatisfatória para a clínica, porque declara o tumor hipofisário como câncer apenas após o surgimento de metástase (PERRY, SHEITHAUER 2006). A caracterização dos adenomas atípicos, fator importante para o prognóstico e manejo clínico, está baseada na fração de crescimento pelo Ki 67 ($\geq 3\%$), e na extensa imunoreação ao p53, e o índice de proliferação avaliado pelo Ki 67 é um fator preditivo e não prognóstico (KONTOGEOGOS 2006b). A definição de comportamento invasivo, clinicamente aplicável como fator prognóstico, ainda não é consenso nessa classificação (WOLFSBERGER & KNOSP, 2006).

Nota-se ainda que na Classificação Internacional de Doenças (CID-10), os adenomas hipofisários aparecem como atípicos, típicos e carcinomas hipofisários, sem que os diversos tipos hormonais estejam contemplados, o que é prejudicial para os estudos estatísticos sob o ponto de vista epidemiológico (AL-SHRAIM & ASA, 2006).

A classificação dos adenomas hipofisários está baseada em quatro abordagens:

- 1- Classificação funcional, que define esses tumores enfocando a respectiva atividade endócrina; 25% a 30% dos adenomas é clinicamente não funcionante ou endocrinamente inativo (FERREIRA JEA et al, 2005).
- 2- Classificação anatômica e neuroradiológica, baseada no tamanho tumoral e grau de invasão. A mais usada é baseada na classificação de Hardy de 1969, que coloca os adenomas em quatro categorias. Como parte dessa abordagem é importante frisar que invasão local, em certos subtipos de adenomas, é relativamente comum embora não necessariamente indicativa de potencial de malignidade.

- 3- Classificação histológica, baseada na caracterização imunoistoquímica dos tumores, em termos de produção hormonal incluindo os seis maiores hormônios. Outros anticorpos podem ser usados para identificar certos subtipos de adenoma hipofisário – por exemplo, o uso de anticorpos para citoqueratina de baixo peso molecular, para identificar corpos fibrosos em adenomas somatotróficos esparsamente granulados.
- 4- Classificação ultraestrutural, que confirma que adenomas não funcionantes são de origem hipofisária e caracteriza a diferenciação citológica das células tumorais em termos de tipo celular da hipófise anterior. Também fornece reconhecimento de caracteres específicos, particularmente em adenomas pluri-homonais incomuns, como o adenoma acidófilo de células imaturas, oncocitomas, adenoma silencioso subtipo 3.

Classificação dos Adenomas Hipofisários – Organização Mundial da Saúde 2004 (WHO 2004)

Código morfológico da Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (CID-O) e Nomenclatura Sistematizada de Medicina SNOMED. Comportamento é codificado /0 para tumores benignos, /3 para tumores malignos, e /1 para comportamento *borderline* ou incerto.

Adenoma hipofisário

Adenoma Típico	8272/0
Adenoma Atípico	8272/1
Carcinoma hipofisário	8272/3

Classificação morfológica/imunoistoquímica

Adenomas produtores de GH

Adenoma Somatotrófico

- a) densamente granulado
- b) esparsamente granulado

- 1) Adenoma misto Somatotrófico-Lactotrófico ou Somatomamotropinomas.
- 2) Adenoma Mamosomatotrófico ou Mamosomatotropinomas.
- 3) Adenoma acidófilo de células imaturas

Adenoma produtor de PRL

- a) densamente granulado
- b) esparsamente granulado

Adenoma produtor de ACTH

- a) funcionantes
- b) não funcionantes: subtipo 1 e 2

Adenoma produtor de TSH

Adenoma produtor de gonadotrofina

Adenoma de células Nulas

Adenoma Pluri-hormonal

- a) funcionante
- b) não funcionante, subtipo 3

- Classificação funcional dos adenomas hipofisários

A- Hiperfunção endócrina - evidência clínica ou bioquímica de elevação hormonal no soro.

- *Acromegalia/gigantismo, elevados níveis de GH / IGF1 sanguíneo*

- Hiperprolactinemia e seqüelas

- Doença de Cushing, elevados níveis de ACTH e cortisol sanguíneos.

- Hipertireoidismo com secreção inapropriada de TSH

- Níveis significativamente elevados de FSH, LH e/ou subunidade α .

- Produção elevada de múltiplos hormônios de tumores pluri-homonais.

B - Clinicamente não funcionantes

- hormônio produzido ou liberado desconhecido

- Hormônios ou fragmentos de hormônios produzidos que podem não causar manifestações clínicas – FSH, LH, e/ou subunidade α .

- Hormônio, que normalmente produz sinais e sintomas, é produzido, mas, sem manifestações clínicas ou manifestações biológicas – adenomas silenciosos - produtores de ACTH ou GH.

- Fragmento hormonal biologicamente inativo ou produto hormonal.

C - Status funcional indeterminado

- Classificação anatômica e neuroradiológica - padrão de crescimento

Baseada na classificação de Jules Hardy

Essa classificação avalia o tamanho tumoral e a invasão das estruturas adjacentes e divide os AH em quatro graus(Tabela 1; Figura 7):

Tabela 1- Classificação neuroradiológica dos adenomas hipofisários (baseada em J. Hardy)

Grau	tamanho	Localização	Alterações ósseas
I	<10 mm	Intra-hipofisário	Ausentes
II	≥10 mm	Expansão intra-selar ou supra-selar, sem invasão	Expansão selar
III	≥10 mm	Expansão intra-selar ou supra-selar, invasão local	Erosão selar
IV	≥10 mm	Expansão supra-selar, invasão de estruturas extra-selares	Invasão óssea

O grau I de Hardy corresponde aos AH menores de 10mm, denominados microadenomas, restritos à adeno-hipófise, bem delimitados.

Os AH ≥ 10mm são os chamados macroadenomas que ultrapassam os limites da sela túrcica, com crescimento expansivo (grau II de Hardy), ou invasivo (graus III e IV de Hardy); podem infiltrar meninges e sei

os cavernosos, invadir tecido ósseo da sela túrcica e seio esfenóide; ocasionalmente fazem protusão na cavidade nasal como pólipos (WHO, 2004).

- Crescimento expansivo: radiograficamente, macroscopicamente e histologicamente com marcada interface entre o tumor e tecidos adjacentes; usualmente não encapsulado.
- Crescimento invasivo: envolvimento ósseo, de nervos, vasos, o que é visto radiograficamente, macroscopicamente ou histologicamente. A invasão microscópica da dura mater é comum e não é considerada como indicadora confiável de comportamento tumoral agressivo.
- Carcinoma hipofisário: esse tumor precisa mostrar metástases. Poderá ocorrer metástase sistêmica ou crânio-espinal. Invasão do tecido nervoso é até o momento um critério de malignidade controverso.

1- Adenomas produtores de hormônio do crescimento (GH) (Figura8)

- Somatotropinomas - AH produtores de GH puros, constituídos somente por somatotrofos, divididos em dois tipos bem definidos:
 - a) Densamente granulados
 - b) Esparsamente granulados
- Somatomamotropinomas - Adenomas mistos, produtores de GH e PRL, por populações celulares diferentes
- Mamosomatotropinomas - Excesso de GH e PRL, produzidos pela mesma célula.
- Adenomas acidófilos de células imaturas estão tipicamente associados à hiperprolactinemia com raros sinais de acromegalia.

Quadro Clínico:

Os adenomas produtores de GH estão, com frequência, clinicamente associados à acromegalia ou gigantismo, e representam de 25 a 30% dos AH retirados cirurgicamente (WHO, 2004).

Três síndromes distintas caracterizam os adenomas produtores de GH:

- 1) Efeito de excesso de GH/ Fator de Crescimento Insulina *simili* (IGF-1).
- 2) Efeito de massa
- 3) Hipofunção adeno-hipofisária induzida pelo tumor.

O quadro clínico é também influenciado pela idade. Na pré-puberdade as manifestações de gigantismo e crescimento somático predominam. Na pós-puberdade há predomínio do crescimento acral.

Muitos dos efeitos de crescimento do GH são mediados por IGF-1 circulante, parácrino/autócrino. O efeito de IGF-1 se manifesta como espessamento dos tecidos moles e crescimento ósseo. Assim os portadores podem apresentar aumento das mãos e pés, alargamento do nariz, espessamento labial, aumento da mandíbula, prognatismo, alargamento do espaço inter-dental. Espessamento da pele, com *skin tags* no pescoço e axilas. Alargamento da língua e úvula, determinando apnéia do sono. Aumento assintomático de vísceras (bócio e alargamento das glândulas salivares); hipertrofia do miocárdio ventricular, podendo evoluir com cardiomiopatia e arritmia. Aumento da cartilagem intra-articular resultando artropatias, com cifose importante, quando localizada na coluna vertebral (WHO, 2004).

Macroscopia

Adenomas produtores de GH são macios e esbranquiçados ou róseo-acinzentados.

a) *adenomas produtores de GH densamente granulados:*

São acidófilos, bem diferenciados, com baixo índice de crescimento, geralmente não ultrapassando os limites da sela túrcica. O citoplasma das células desse adenoma mostra forte positividade imunoistoquímica ao GH. A ultraestrutura das células do adenoma é semelhante às células não tumorais (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

b) *adenomas produtores de GH esparsamente granulados:*

São cromófbos, geralmente exibindo polimorfismo nuclear, curso mais agressivo, crescimento rápido, erosão selar e extensão paraselar. A imunoistoquímica revela positividade ao GH na região do aparelho de Golgi. Contrastando com a variante densamente granulada, adenomas esparsamente granulados apresentam corpos fibrosos que deslocam os núcleos para a periferia, com imunoreação positiva para citoqueratina de baixo peso molecular. A ocorrência dos corpos fibrosos globulares e/ou retículo endoplasmático tubular, geralmente dispostos na região do aparelho de Golgi, é auxiliar no diagnóstico desse adenoma (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Os grânulos secretores são esféricos, esparsos e medem até 250nm.

Depósito de amilóide pode estar presente nos adenomas GH densamente e esparsamente granulados. Modificações como proliferação fibrosa perivascular ou intersticial são freqüentes (CHEUNG & ASA, 2001).

c) Mamosomatotropinomas

Mamosomatotropinomas são adenomas bi-hormonais, monomorfos, de crescimento lento, bem diferenciados, constituídos por células acidófilas, que co-expressam intensa imunoreatividade citoplasmática ao GH e PRL. A aparência ultraestrutural tem forte semelhança com adenomas produtores de GH densamente granulados, porém, os grânulos de secreção são pleomorfos e maiores de 2000nm. Grânulos secretores grandes, com depósito do material secretado extravasado nos espaços intercelulares, são marcas características ultraestruturais desse tipo de adenoma (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

d) Somatomatotropinomas

São adenomas bi-hormonais, mistos de células produtoras de GH e células produtoras de PRL, associados clinicamente com acromegalia ou gigantismo e vários graus de hiperprolactinemia. Histologicamente estão constituídos por células acidófilas e cromóforas, que correspondem a somatotrófos e lactotrofos. A imunoistoquímica revela presença de GH e PRL em populações celulares diferentes. A distribuição dos dois tipos celulares pode ser irregular no mesmo tumor (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

e) Adenoma acidófilo de células imaturas

Correspondem a menos de 1% de todos os AH. São monomorfos, bi-hormonais, com alto índice de crescimento, invasivos para a região paraselar e infraselar. Estão associados clinicamente com sinais e sintomas de hiperprolactinemia, embora níveis séricos de PRL estejam, freqüentemente, menos aumentados quando comparados com adenomas produtores de PRL bem diferenciados e de tamanhos parecidos (CHEUNG & ASA, 2001;

ASA et al, 2001; WHO, 2004). Ocasionalmente, pode ocorrer acromegalia, sem elevação aparente dos níveis séricos de GH (acromegalia fugidia). São mais frequentes no sexo feminino e resistentes ao tratamento clínico com bromocriptina (WHO, 2004).

Histologicamente são cromóforos, com algum grau de acidofilia. Podem exibir polimorfismo nuclear e vacúolos citoplasmáticos.

A imunoistoquímica detecta PRL no citoplasma, e GH em alguns casos; os dois hormônios podem estar presentes nas mesmas células. A coloração para citoqueratina de baixo peso molecular revela a presença de corpos fibrosos. A microscopia eletrônica, mostra as características comuns ao adenoma produtor de PRL – grânulos extrudados -, e ao adenoma produtor de GH esparsamente granuloso – corpos fibrosos, centríolos múltiplos e retículo endoplasmático liso tubular - acompanhadas, além de gigantismo mitocondrial que parece ser específico desse tipo de tumor. Apresenta alto índice de recorrência (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

f) Adenomas Pluri - hormonais

A pluri-hormonalidade, produção de mais de um hormônio, é comum nos adenomas produtores de GH; cinquenta por cento, particularmente os densamente granulados e mamosomatotropinomas contém PRL, α SU, ocasionalmente β TSH e excepcionalmente β FSH e β LH (WHO, 2004).

2- Adenomas produtores de Prolactina (PRL) (Figura 8)

Os adenomas lactotróficos, produtores de PRL, são os adenomas funcionantes mais comuns, representando cerca de 11 a 25% dos adenomas sintomáticos em material de patologia cirúrgica. Manifestam-se clinicamente por sintomas relacionados a hiperprolactinemia. No sexo feminino pode ocorrer amenorréia e galactorréia (síndrome de Forbes-Albright), irregularidade menstrual, infertilidade e hirsutismo e, no masculino, impotência, perda da libido, oligospermia e, mais raramente, ginecomastia e galactorréia. A osteoporose prematura, pode estar presente como consequência do hipogonadismo prolongado. Os macroprolactinomas podem comprimir estruturas vizinhas, causando alterações visuais e mesmo distúrbios de nervos cranianos. Pelo efeito compressivo, no

restante da glândula, um estado de pan-hipopituitarismo pode se estabelecer. O diagnóstico é confirmado pela dosagem de PRL no sangue. Mais recentemente o número de casos cirúrgicos tem diminuído, resultado do tratamento clínico com agonistas dopaminérgicos.

Duas variantes de adenomas produtores de PRL são reconhecidas:

- densamente granulados, que são raros e
- os esparsamente granulados, com predomínio acentuado desse último.

Quase todos os adenomas produtores de PRL esparsamente granulados, são histologicamente cromófbos ou levemente acidófilos, com forte imunoreatividade citoplasmática ao PRL e coloração globular característica na região justanuclear do aparelho de Golgi. A ultraestrutura desse tumor é característica: células poliédricas justapostas com núcleo oval ou pouco irregular, cromatina clara finamente dispersa, e nucléolo denso e proeminente. O retículo endoplasmático rugoso é bem desenvolvido e freqüentemente organizado em lamina concêntricas, denominadas *nebenkerns*. O aparelho de Golgi ocupa área extensa no citoplasma e contém numerosos grânulos de secreção. Os esparsos grânulos de secreção são esféricos ou pleomorfos, medindo 130 a 300nm, a maioria entre 200 e 250 nm. A característica mais marcante desse tipo tumoral é a extrusão de grânulos secretores nas membranas celulares laterais, distantes do espaço perivascular e extensões da lamina basal. Essa forma de secreção é o mecanismo de descarga hormonal pelas células produtoras de PRL (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Esses tumores também podem apresentar, com freqüência, calcificação (15%) e depósito de amilóide (5-6%).

3- Adenoma produtor de tireotrofina (TSH)

Adenomas produtores de TSH são raros, podendo estar associados a hipotireoidismo primário de longa duração não tratado ou com hipertireoidismo caracterizado por níveis altos de T4 e T3, assim como elevado nível sérico de TSH. Em alguns casos, por razões desconhecidas até o momento, tumores tireotróficos típicos podem evoluir clinicamente silenciosos, em pacientes eutireoideos. Histologicamente são

cromóforos com padrão sinusoidal. A imunoistoquímica demonstra TSH- β em muitos desses tumores. A microscopia eletrônica pode revelar células de tamanho médio ou mesmo grandes células angulares, núcleo uniforme, retículo endoplasmático rugoso dilatado e proeminente, área de Golgi extensa e número variável de grânulos de pequenas proporções (100 a 300 nm) aglomerados. Alguns tumores exibem aspecto menos diferenciado, com núcleo irregular, citoplasma escasso contendo retículo endoplasmático rugoso pouco desenvolvido, aparelho de Golgi inconspícuo e grânulos de secreção esparsos e pequenos, lembrando o adenoma de células nulas (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

4- Adenoma produtores de Corticotrofina (ACTH) (Figura8)

Adenomas corticotróficos ou corticotropinomas clinicamente funcionantes são associados com Doença de Cushing ou ocorrem em pacientes tratados com adrenalectomia bilateral, para tratamento de hipercortisolismo (Síndrome de Nelson). A Doença de Cushing compreende os sinais e sintomas associados com uma exposição prolongada a níveis imprópriamente elevados de glicocorticóides livre no plasma, como obesidade centrípeta, face de “lua-cheia” e estrias purpúricas. A incidência é mais acentuada no sexo feminino e ocorre entre 20 e 40 anos.

Histologicamente, a maioria dos adenomas produtores de ACTH mostra células tumorais basófilas, com padrão sinusoidal, corando-se pelo PAS. A imunoistoquímica revela positividade para ACTH, β -LPH e endorfinas. São caracteristicamente positivas para citoqueratina de baixo peso molecular. A ultraestrutura das células neoplásicas mostra semelhança com as células produtoras de ACTH não tumorais: formato celular angular, núcleo ovóide e citoplasma elétron – denso. O retículo endoplasmático rugoso é bem desenvolvido e pouco dilatado, distribuído ao acaso no citoplasma, onde também são numerosos os ribossomos. O aparelho de Golgi é proeminente e abriga grânulos de secreção; os grânulos de secreção são numerosos, esféricos ou irregulares, medindo 250 a 450 nm, a maioria entre 300 a 350 nm. A marca diagnóstica das células tumorais do adenoma produtor de ACTH é a presença de filamentos de citoqueratina, perinucleares, delgados que se arranjam em feixes. Os feixes de filamentos são semelhantes aos encontrados nas células produtoras de ACTH não tumorais, precursores dos corpúsculos

hialinos de Crooke nos corticotrofos de pacientes com hipercortisolismo. Os tumores da Síndrome de Nelson apresentam pouco ou nenhum filamento(CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Subtipo 1 - adenoma corticotrófico não funcionante, histologicamente basófilos, imunoreativos ao ACTH, β -LPH, e endorfinas, com aparência ultraestrutural indistinguível do adenoma basófilo produtor de ACTH em casos de doença de Cushing.

Subtipo 2 – adenoma predominantemente masculino, histologicamente cromóforo ou com discreta basofilia e granulação PAS positiva. A imunoistoquímica para o ACTH é positiva e peptídeos relacionados ao ACTH estão invariavelmente presentes. A microscopia eletrônica revela células angulares com retículo endoplasmático rugoso e aparelho de Golgi bem desenvolvidos, grânulos de secreção esféricos ou ovais medindo acima de 450 nm; não apresenta microfilamentos.

5- Adenomas produtores de Gonadotrofinas (GnRH) (Figura 8)

Constituem de 15% a 20% de todos os AH.O diagnóstico dos adenomas gonadotróficos pode oferecer dificuldade, e freqüentemente são diagnosticados quando já atingiram dimensões de macroadenoma porque muitos são hormonalmente inativos. A insuficiência adeno-hipofisária é muito mais freqüente do que a hiperestimulação gonadal, porém alguns pacientes podem apresentar sintomas de hipersecreção hormonal manifestando-se com hiper-estimulação ovariana, aumento testicular ou puberdade precoce São mais freqüentes no sexo masculino, com níveis elevados de FSH e raramente LH. Em pacientes do sexo feminino os níveis de FSH e LH raramente excedem o valor normal superior para a idade.

Histologicamente adenomas gonadotróficos são cromófobos com arranjo sinusoidal e formação de pseudo-rosetas perivasculares. Raramente pode ocorrer basofilia e positividade para PAS. A imunoistoquímica revela presença de subunidade α , FSH- β e LH- β no citoplasma, além de positividade nuclear para SF-1. Constituídos por células alongadas, núcleo localizado em um dos pólos, e citoplasma com retículo endoplasmático rugoso de conteúdo floculento; o aparelho de Golgi é proeminente e bem

desenvolvido e os grânulos de secreção são esparsos e pequenos com menos de 200 nm (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Exclusivo do sexo feminino, um subgrupo de adenomas gonadotróficos, apresenta morfologia de adenoma bem diferenciado, proeminência do aparelho de Golgi, que exibe dilatação vesicular, conferindo-lhe aspecto característico em casa de abelha; essa alteração ultraestrutural em organela citoplasmática foi anteriormente interpretada como marca diagnóstica dessa variante do adenoma gonadotrófico; posteriormente outros trabalhos registraram a existência desse mesmo aspecto no aparelho de Golgi em adenomas produtores de ACTH (SANO et al 2003; KIM et al 2005).

Muitos adenomas gonadotróficos apresentam características sutis, comuns aos adenomas de células nulas; outros adenomas bem diferenciados são constituídos por células semelhantes aos gonadotrofos não tumorais (ASA et al, 2001).

Subtipo 3 – são adenomas de comportamento biológico agressivo, invasivos com elevado índice de recorrência (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

6- Adenomas não Funcionantes

Os adenomas não funcionantes correspondem a 25% – 30% dos AH; não apresentam evidência clínica de hipersecreção hormonal, e apesar disso 86% deles apresentam imunistoquímica positiva a pelo menos 1 subunidade de hormônio glicoproteico. A imunistoquímica é freqüentemente positiva para FSH, LH ou subunidade α ; 8,1% são corticotropinomas silenciosos e 2,7% somatotropinomas silenciosos (FERREIRA JEA et al, 2005). Manifestam-se com sintomas neurológicos de massa selar, com freqüente envolvimento extraselar e variados graus de hipopituitarismo. Além dos adenomas não funcionantes gonadotróficos, são também não funcionantes os AH de células nulas e os oncocitomas.

O comportamento biológico dos adenomas não funcionantes é freqüentemente agressivo, com três subtipos:

Adenomas de células nulas (Figura 8)

O termo adenoma de células nulas se refere aos tumores hipofisários que são constituídos por células com características morfológicas de secretoras endócrinas, porém faltando sinais imunoistoquímicos e ultraestruturais que as relacione a um tipo específico. Clinicamente são não funcionantes. Histologicamente são cromófbos, de padrão sinusoidal ou difuso. A imunoistoquímica é negativa para todos os hormônios hipofisários, ou com poucas células de citoplasma corado para um ou mais hormônios, geralmente hormônios glicoproteicos e sua subunidade α , subunidades α e β de hormônios gonadotróficos e reação nuclear positiva para SF-1. A microscopia eletrônica revela células tumorais poliédricas e justapostas, de núcleo irregular. O escasso citoplasma contém retículo endoplasmático de superfície rugosa pouco desenvolvido, ribossomos agrupados, e número variável de mitocôndrias pequenas, e alongadas. O aparelho de Golgi é mais proeminente em relação às demais organelas. Os grânulos de secreção, de centro denso e halo circundando a membrana limitante, são esparsos medindo 100 a 250 nm (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Oncocitomas

A transformação oncocítica, que consiste no aumento numérico e volumétrico das mitocôndrias, pode ser evidente em uma variável proporção de células do adenoma de células nulas, podendo ocupar acima de 55% da área citoplasmática. Se a transformação oncocítica é muito extensa envolvendo a maioria das células do adenoma, é denominado oncocitoma hipofisário. Histologicamente esse adenoma é cromófbos ou, de acordo com a quantidade de mitocôndrias, exibir vários graus de acidofilia. A imunoistoquímica dos oncocitomas revela o mesmo comportamento dos adenomas de células nulas, assim como a ultraestrutura das organelas, também similar em ambos, com exceção da abundância em mitocôndrias, que é a marca característica dos oncocitomas. Adenomas de células nulas e oncocitomas são agrupados com base na ausência ou escassez de marcas morfológicas. É digno de nota que qualquer adenoma clinicamente funcionante pode apresentar transformação oncocítica, principalmente em pacientes idosos (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004)..

7- Carcinoma adeno-hipofisário

São tumores raros e originam-se de células adeno-hipofisárias. Podem produzir hormônios hipofisários como GH, PRL, ACTH, clinicamente funcionantes ou não funcionantes. A histologia do carcinoma adeno-hipofisário não é consistentemente diferente dos AH. Podem exibir altos índices de Ki 67 indicando proliferação acelerada, mas esses índices não são marcas diagnósticas. O diagnóstico só pode ser estabelecido quando a lesão produzir metástases, definindo o seu comportamento biológico (CHEUNG & ASA, 2001; ASA et al, 2001; WHO, 2004).

Epidemiologia

A real incidência dos adenomas hipofisários (AH) não está estabelecida com certeza. Com os modernos métodos de imagem e análise bioquímica da atividade hormonal os cálculos recentes apontam incidência de 20% na população geral, o que indica que AH são freqüentes.

Uma meta-análise dos artigos em língua inglesa, publicados no MEDLINE usando os termos “pituitary adenoma” e “pituitary tumor”, encontrou prevalência estimada de 16,7% (14,4% em séries de autópsias e 22,5% em estudos radiológicos) (EZZAT et al, 2004).

Estudos histológicos mostraram prevalência de 22% (BURROW et al, 1981). Usando tomografia computadorizada de alta resolução ou ressonância magnética, aproximadamente 20% das hipófises “normais” contém uma lesão incidental medindo 3 mm de diâmetro, ou mais (ELSTER, 1993). A maioria desses tumores assintomáticos é clinicamente não funcionantes (KOVACS et al, 1980).

A incidência, quanto ao sexo, é igual e aumenta com a idade em estudos de autópsias, onde mais de 30% das pessoas entre 50 e 60 anos de idade abrigam tumores indetectáveis (ASA & EZZAT, 1998).

Os AH diagnosticados clinicamente representam 10% das neoplasias intracranianas (KOVACS & HORVATH, 1986).

Os avanços em técnicas de imagem, detecção bioquímica de anormalidades hormonais, técnicas microcirúrgicas, elevam o número de procedimentos cirúrgicos e em algumas séries de AH representam aproximadamente 25% dos tumores intracranianos ressecados cirurgicamente. Entretanto, isso pode refletir uma polarização, indicando o interesse do cirurgião ou da instituição pelo tema.

Dados epidemiológicos obtidos antes de 1969 indicam aumento anual de 1.85 por 100000 habitantes com variação geográfica e racial.

Prolactinomas são mais freqüentes. Um terço dos adenomas não são associados com clinica de hipersecreção, mas apresentam-se com sintomatologia de massa intracraniana, como cefaléia, náusea, vômitos ou distúrbios do campo visual. Adenomas secretores de GH ou ACTH representam 10-15% dos adenomas e os produtores de TSH são raros (ASA & EZZAT, 1998a).

A freqüência dos vários tipos de AH, em séries cirúrgicas, varia com vários fatores como geografia e o tratamento terapêutico envolvido. Em alguns serviços, por exemplo, prolactinomas mono-hormonais são raros em material cirúrgico porque o tratamento clínico é a conduta de primeira escolha (KOVACS & HORVATH, 1986). Adenomas somatotróficos representam aproximadamente 25-30% dos AH retirados cirurgicamente (WHO 2004).

Mulheres usualmente apresentam AH em idade jovem e têm alta incidência de adenomas secretores de PRL e ACTH, enquanto homens tendem a apresentar AH na meia idade ou mais tardiamente com tumores não funcionantes.

Adenomas são infreqüentes em crianças. Só 3,5-8,5% são diagnosticados antes dos 20 anos (KANE et al, 1994).

Os adenomas mamosomatotróficos são a causa mais comum de gigantismo em pacientes jovens. Os esparsamente granulados e adenomas acidófilos de células imaturas mostram discreta predominância em homens jovens (WHO 2004).

Patogenia dos adenomas hipofisários

Estudos dos AH sob o ponto de vista ultraestrutural, imunoistoquímico, citogenético e da biologia molecular, associados a modelos experimentais em animais, têm permitido abordagens relativas à patogenia e evolução desses tumores. A tumorigênese é considerada como um evento multifatorial (KUJAS M, 2001). Durante muito tempo houve controvérsia na base da tumorigênese; duas teorias prevaleciam: estimulação hormonal e defeito hipofisário intrínseco. Muitos modelos animais deram suporte para a regra da

estimulação hormonal no desenvolvimento dos AH e há evidências de que produção adeno-hipofisária de hormônios hipotalâmicos hipofisiotrópicos podem ser responsáveis pelo excesso de estimulação (KUJAS, 2001).

O início e a progressão dos AH estão associados a grande número de alterações genéticas. A análise citogenética dos cromossomos pode fornecer informações importantes sobre o desenvolvimento e progressão dos tumores.

Aumento de cópias do cromossomo 11 é mais freqüente em AH funcionantes aneuplóides. Adenomas somatotróficos, mamosomatotróficos e mistos de GH e PRL, mostram frequentemente aberrações cromossômicas no cromossomo 11, como aumento do número de cópias que compromete 8-24% da população celular do adenoma (WHO, 2004).

Três a trinta por cento dos AH esporádicos apresentam perda da heterozigosidade em 11q13 e essa perda do alelo no braço longo do cromossomo 11, ao lado do cromossomo 10 e 13 está significativamente associado à transição do fenótipo não invasivo para o invasivo (ASTERIA et al, 2001).

Genes envolvidos no desenvolvimento da hipófise não contribuem para o aparecimento dos tumores, entretanto, mutações e outras alterações nesses genes geralmente levam a hipofunção hipofisária (LLOYD , 2001; PELLEGRINI et al, 1994). Em estudos da ontogenia das células da hipófise anterior, somatotrofos, lactotrofos e tireotrofos, são dependentes da ativação do gene Pit-1, que é um fator de transcrição importante na diferenciação hipofisária, o que talvez explique a expressão pluri-hormonal observada em alguns tumores (GIANNELLA & GIANNELLA NETO, 2000). A expressão de genes homeobox pode identificar o estágio de desenvolvimento onde ocorreu a transformação celular (FAGLIA & SPADA, 2001).

A hipófise responde a numerosos estímulos centrais e periféricos através de modificações plásticas reversíveis e mudanças funcionais, resultando em hiperplasia/produção hormonal aumentada, ou involução/produção hormonal reduzida, o que pode estar relacionado à habilidade de transformação tumoral. Os mecanismos de mudança na plasticidade hipofisária e suas relações com o desenvolvimento tumoral,

podem justificar as diversas anormalidades genéticas observadas nos tumores hipofisários (DONANGELO & MELMED, 2005).

Os AH funcionantes e não funcionantes são de origem monoclonal, isto é, um defeito intrínseco em uma única célula adeno-hipofisária é o primeiro evento da patogenia dessa neoplasia (DONANGELO & MELMED, 2005). Outros fatores, como hormônios hipotalâmicos, fatores locais de crescimento e hormônios esteróides gonadais circulantes, criam um ambiente potencializador de mutações celulares e subsequente expansão clonal da célula mutada inicialmente.

Cada uma das células adeno-hipofisárias maduras e altamente diferenciadas pode dar origem a um tipo tumoral. O fenótipo de cada tipo celular é determinado por fatores de transcrição específicos, cuja expressão é modulada por hormônios hipotalâmicos, hormônios periféricos e fatores de crescimento parácrinos (HEANEY & MELMED, 2000).

Numerosos fatores extrínsecos e defeitos hipofisários intrínsecos podem causar mutações irreversíveis no DNA de células adeno-hipofisárias.

Fatores etiológicos possivelmente implicados no desenvolvimento e progressão tumoral:

Fatores hereditários

MEN 1 com envolvimento de 11q13

Complexo de Carney com envolvimento de 2p16 e 17q

Acromegalia familiar com envolvimento de 11q13 e outros loci

Síndrome de McCune – Albright com envolvimento de 20q13.2

Fatores hipotalâmicos

Excesso de produção de GHRH, CRH, TRH ou GnRH

Fatores hipofisários

Anormalidade do receptor hormonal

Alterações de sinais de transdução (GSO, CREB)

- Fatores de crescimento e receptores: FGF, FGFR, NGF, EGF, EGFR, VEGF, VEGFR, TGF α e β
- Ativação de oncogenes/ defeitos do ciclo celular – PTTG, Ras, p27,p18,p16, ciclinas
- Perda de função de gene supressor tumoral (11q13)

Fatores periféricos

Falha no órgão alvo com interrupção de *feedback*, ex. supra-renal, tireóide e gônadas. (WHO, 2004)

De acordo com os princípios gerais da tumorigênese, evidências *in vivo* e *in vitro*, sugerem que a expansão de um clone de células hipofisárias que sofreu mutação, requer um evento secundário para a progressão tumoral. A necessidade de um segundo passo é indicada pela observação clínica da detecção incidental de microadenomas hipofisários em cerca de 20% dos exames neurológicos por imagem, sem sinais ou sintomas endócrinos, ou ainda os encontrados em autópsias (LANIA, et al 2004).

Duas categorias de genes promovem o desenvolvimento de um clone neoplásico: oncogenes e proto-oncogenes, enquanto genes supressores tumorais agem bloqueando a proliferação celular, através da regulação do ciclo celular, ou mantendo a estabilidade do genoma. A deleção de genes ou mutações pontuais determinam perda de função do par de alelos de um gene supressor tumoral, levando ao desenvolvimento tumoral (HEANEY & MELMED, 2000).

Gene Gsp

Entre os oncogenes, são freqüentes as mutações no gene Gsp, localizado no cromossomo 20q13, foi Identificado pela primeira vez em adenomas produtores de GH (LANIA et al 2003). As mutações de Gsp são encontradas também, com menor freqüência, em adenomas não funcionantes, adenomas produtores de ACTH e TSH (LANIA et al 2003; ZHANG et al 1999;FAGLIA & SPADA 2001).

Proto oncogene ras

O proto oncogene ras se converte em oncogene por mutações pontuais, devido à substituição de aminoácidos. Está implicado em vários tipos de neoplasias malignas, porém são incomuns nos AH (NAM et al 2001; GÜRLEK et al 2007).

Gene PTTG

O gene de transformação tumoral hipofisária (PTTG), foi descrito em 1999, por Zhang et al, 1999. Exerce função inibitória da anáfase, impedindo a separação precoce de cromátides irmãs (MUSAT et al 2004). Sob condições aberrantes quando cromátides irmãs migram para o mesmo pólo, se estabelece a aneuploidia. A expressão de PTTG foi encontrada em todos os tipos de tumores hipofisários, sugerindo que PTTG é um possível marcador relacionado à invasividade em tumores secretores, e importante oncogene envolvido na tumorigênese hipofisária (ZHANG et al 1999).

Gene RB, p16

Entre os supressores tumorais importantes na patogenia dos AH, está o gene do Retinoblastoma (RB). A transição da fase G₁ – S no ciclo celular é mediada pela proteína do retinoblastoma (pRb), após sofrer fosforilação, o que ocorre sob a regulação de ciclinas dependentes de quinases (CDK) e de inibidores das CDK (CDKI) (MUSAT et al 2004; FARRELL & CLAYTON 2003). Entre as CDKIs, p16 desempenha importante papel na manutenção de pRb hipofosforilada, mecanismo que interrompe o ciclo celular. Ambos, pRb e p16, são controladores do ciclo celular, e essa função está perdida na grande maioria das neoplasias, através de mecanismos de deleção, mutações pontuais ou metilação (SIMPSON et al 2001; FARRELL & CLAYTON 2003).

p53

O gene p53 localizado no cromossomo 17p13. 1, codifica uma fosfoproteína nuclear envolvida na regulação do crescimento celular. É gene supressor tumoral, e em resposta aos danos do DNA, bloqueia o ciclo celular em G₁, protegendo a célula contra a proliferação maligna, induzindo ao repouso ou apoptose. Quando inativado por mutação, ou

seqüestrado por proteínas virais, a função supressora é perdida, e células desenvolvem transformação maligna (SULIMAN et al 2001).

Mutações no gene p53 são as anormalidades genéticas mais freqüentes no desenvolvimento do câncer humano, encontrada em mais de 50% dos tumores investigados. A proteína p53 normal tem meia vida muito curta não sendo detectável através do método imunistoquímico, em células normais. A proteína p53 mutante possui meia vida longa e facilmente detectável pelo método imunistoquímico (KING & CIDLOWSKI 1998; HOLM et al 1993)

Os estudos imunistoquímicos com o p53 em AH mostram resultados variáveis e controversos (PEI et al., 1995; WOLOSCHACK ,et al 1996). Thapar et al., 1996b, registram expressão positiva de p53 em 0% dos adenomas não invasivos, 15% em adenomas invasivos, e 100% em carcinomas hipofisários metastáticos. Suhardja et al. em 1999 encontraram imunexpressão positiva para p53 em mais de 60% de adenomas produtores de ACTH.

Em outros tecidos como na mama e endométrio o p53 é considerado positivo, quando mais de 10% das células neoplásicas mostram coloração nuclear positiva (FERRINI et al, 2001; KOHLER et al 1996).

A mais recente classificação dos tumores hipofisários da OMS, relaciona a extensa positividade p53 aos adenomas denominados atípicos, quando associada à índice de proliferação pelo Ki-67 maior do que 3%. Nos carcinomas hipofisários, assim como nas metástases desses carcinomas, o p53 é freqüentemente positivo (WHO 2004).

MEN-1

A neoplasia endócrina múltipla tipo 1, foi definida por Paul Wermer em 1954, como síndrome da adenomatose da adeno-hipófise, paratireóide e ilhotas de Langherans do pâncreas, observada em uma família onde o pai e quatro de nove irmãos eram afetados. Ficou estabelecido, a partir daí, que essa síndrome é causada por gene autossômico dominante com alto grau de penetrância. Paul Wermer relata ainda, nessa publicação, que úlceras gástrica e duodenal eram patologias encontradas freqüentemente nesses pacientes, e

sugeriu que esses aspectos poderiam ser manifestações pleiotrópicas desse mesmo gene (WERMER, 1954). Foi então denominada Síndrome de Wermer.

O gene da neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN 1), responsável pela síndrome descrita por Wermer, hoje conhecida como síndrome MEN 1, foi clonado recentemente (GURU et al 1998). Identificado como gene autossômico dominante, localizado no 11q 13, contém 10 exons e se estende por 9 kb; codifica a proteína menin, constituída por 610 aminoácidos, sem nenhuma similaridade com outra proteína previamente conhecida (CHANDRASEKHARAPPA et al 1997; COURSEAU, et al 1996; GURU, et al 1998b; BALOGH, et al 2006; COSTA, et al 2001). Análises em diferentes trabalhos detectaram mutações do gene MEN1 em células germinativas de 70-90% de pacientes com diagnóstico dessa síndrome, portadores de adenomas de paratireóide (90%), adenomas em ilhotas de Langherans (40%) e AH (30%) (THAKKER, 1998). Mutações somáticas do gene MEN 1 e perda da heterozigose envolvendo o cromossomo 11q13 também são encontradas em proporção substancial em tumores endócrinos esporádicos especialmente em insulinomas (2% e 50% respectivamente), gastrinomas (33% e 93% respectivamente), adenomas de paratireóide (21% e 39% respectivamente) e AH (0,03%) (FONTANIÈRE, et al 2006; THAKKER, 1998; COSTA, et al 2001).

A análise estrutural da proteína menin, produto do gene MEN1, revelou dois sinais de localização nuclear (NLSs), situados na região C-terminal da proteína, sugerindo seu papel na regulação da transcrição, replicação do DNA ou controle do ciclo celular (WROCKLAGE, et al 2002). NLSs são aparentemente essenciais para a ligação direta de DNA com menin(BALOGH, et al 2006). Interações menin – DNA, podem desempenhar função importante na regulação da proliferação celular através de bloqueio da fase G2 - M e/ou G1 – S, à semelhança das proteínas p21 e p27, conhecidas como inibidoras das cinases dependentes de ciclinas (CDKii), que podem parar o ciclo celular em G1 para finalização da síntese de DNA na fase S. Quando as células entram no ciclo celular, a expressão de menin decresce e aumenta assim que a célula progride para a fase S (BALOGH, et al 2006). As CDKi, de forma similar à menin, são expressas em células quiescentes e têm papel importante no repouso em G1, o que sugere que menin pode potencialmente funcionar

como uma CDKi. Esse mecanismo é o mesmo que ocorre quando há aumento da expressão de um supressor tumoral como p53 (BALOGH , et al 2006; FONTANIÈRE, et al 2006).

Obstrução ou instabilidade dos produtos do gene MEN 1, podem conduzir à perda da regulação da transcrição, o que é um possível mecanismo de formação tumoral na síndrome MEN 1(BALOGH, et al 2006).

A localização da maior porção de menin é predominantemente nuclear; embora possa ser detectada em porções do citoplasma e da membrana nuclear, como demonstram trabalhos com imunofluorescência (GURU, et al 1998a; HUANG, et al 1999). Menin interage com filamentos protéicos intermediários tipo III - componentes da rede estrutural celular que conecta as membranas celulares, organelas citoplasmáticas e o núcleo - como a proteína glial fibrilar ácida (GFAP) e vimentina. Menin e GFAP estão presentes e co-localizadas em células neoplásicas de gliomas na fase S – G2 do ciclo celular. Menin pode exercer função inibitória antes do início da fase S e precisa ser transferida para o citoplasma para permitir o prosseguimento do ciclo a partir da fase S. A rede de filamentos intermediários pode servir como seqüestradora de menin na fase S e G2 precoce (BALOGH, et al 2006).

O envolvimento de menin com regulação da transcrição é sugerido pelo fato de menin interagir fisicamente e funcionalmente com fatores de transcrição, como ocorre em relação ao fator JunD, protetor celular contra a senescência, ou da reposta pela apoptose aos estímulos pelo stress(COSTA, et al 2001).

AH estão presentes em 13-60% dos pacientes portadores de MEN 1, onde a ocorrência de adenomas produtores de GH varia de 0-37% (WHO, 2004).

Menin usualmente está alterada, pela redução da função ou ausência, em adenomas associados à MEN 1, entretanto pouco se sabe sobre o mecanismo pelo qual mutações causadoras de simples alterações em aminoácidos determinam a inativação de menin (BALOGH , et al 2006).

Resultados de estudos genéticos fornecem dois argumentos que favorecem a hipótese de MEN 1 estar envolvido também no desenvolvimento de adenomas esporádicos: Primeiro - a perda de heterozigose em 11q13 ocorre em alguns AH, sugerindo a presença

de um gene supressor tumoral nessa localização; Segundo – mutações em MEN 1 foram relatados em adenomas esporádicos e em outras localizações, como em adenomas da paratireóide (10-22%), em tumores pancreáticos endócrinos (10-34%) e carcinóides bronquiais (25-35%) (WROCKLAGE, et al 2002).

Estudos recentes classificam o gene MEN 1 como supressor tumoral, controlando diretamente o crescimento e morte celular em tecidos seletivos. O gene MEN 1 contribui na tumorigênese via perda de função bialélica, e mutação num segundo passo .A mutação pode acarretar perda da função do gene, deleção, perda de heterozigose com perda do alelo selvagem nos portadores de MEN 1. Em tumores endócrinos esporádicos, como adenomas em paratireóide, gastrinomas e insulinosas em pâncreas e adenomas em adeno-hipófise, ambos os alelos estão freqüentemente inativos. As características dessas alterações indicam que a tumorigênese em MEN 1 é provavelmente promovida pela perda da função do gene MEN 1 em codificar a proteína menin. Logo MEN 1 se comporta como um clássico supressor tumoral (GURU, et al 1998b; COSTA , et al 2001).

JUSTIFICATIVA

A anatomia patológica tem como finalidade fornecer informações para a clínica com o propósito de prever o comportamento tumoral. Nas últimas décadas, mecanismos de ativação da proliferação celular, inativação de supressores tumorais, angiogênese e presença de peptídeos, tem sido objeto de atenção nos estudos da tumorigênese. A aplicação de princípios gerais da tumorigênese e a introdução de técnicas de biologia molecular resultaram em avanços no entendimento da patogenia e progressão dos AH. Porém, os exatos mecanismos de origem dos AH, ainda permanecem conjecturais e a complexidade do tema requer pesquisas para melhor elucidação.

Para determinar quando um paciente pode ser considerado curado cirurgicamente uma grande quantidade de estudos experimentais, clínicos e de anatomia patológica têm buscado marcadores de agressividade tumoral.

Entre os fatores preditivos correntes, invasividade é importante, enquanto a presença de mitoses, o índice do Ki-67, expressão de p53 e apoptose são muito importantes; a ploidia de DNA e análise por hibridização in situ, embora importantes, são de difícil aplicabilidade.

Neste trabalho buscamos contribuir para o entendimento da patogenia e progressão dos AH; para tanto somamos o estudo da proliferação celular e de atividade de gene supressor tumoral usando os marcadores Ki 67 e p53.

A formação de novos vasos é essencial para o crescimento e proliferação tumoral; em vários tipos de tumores o tamanho tumoral e o potencial metastático estão correlacionados com a densidade microvascular (DMV). Para a avaliação da DMV, a escolha do CD 34 como marcador de angiogênese foi motivada pela especificidade desse anticorpo para células endoteliais.

O fator de escolha da Galanina entre os neuropeptídeos, foi pelo resultado da sua expressão em adenomas com melhor evolução clínica, obtida e relatada em publicações anteriores.

Quanto ao meningioma, a maioria dos estudos em AH esporádicos e associados à MEN 1, disponíveis na literatura, estão baseados em estudos genéticos e em menor número com a técnica imunohistoquímica. Nosso trabalho utiliza a imunohistoquímica para a avaliação desse supressor tumoral, que é técnica de fácil aplicação e acessibilidade para o patologista na prática profissional.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Estudo dos Adenomas Hipofisários do ponto de vista morfológico, funcional e do comportamento biológico, a partir do emprego da técnica imunoistoquímica

Objetivos específicos

- Avaliar a história clínica e suas correlações com os subtipos de adenomas hipofisários.
- Avaliar a frequência dos subtipos hormonais de Adenomas Hipofisários em amostragem de material cirúrgico.
- Avaliar a frequência dos Adenomas Hipofisários quanto ao modo de crescimento, usando a classificação neuroradiológica de Hardy.
- Avaliar a expressão do Ki-67, p53, CD 34, Menin e Galanina, com a finalidade de buscar fatores preditivos e de prognóstico.

***MATERIAL E
MÉTODOS***

A amostra foi obtida nos arquivos de Patologia Cirúrgica do Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, constituída por peças cirúrgicas, retiradas de pacientes portadores de adenoma hipofisário, submetidos à cirurgia transesfenoidal ou craniotomia no Hospital de Clínicas da UNICAMP, entre os anos de 1995 – 2006, e enviados para exame anátomo – patológico.

Após o levantamento dos casos, foram selecionados 61 AH, não seqüenciais, e que corresponderam aos fragmentos considerados quantitativamente suficientes para a realização dos diversos cortes histológicos necessários para o estudo. Foram excluídos da amostra os casos onde o material era insuficiente quantitativamente e aqueles constituídos por necrose e/ou hemorragia.

As informações clínicas foram obtidas dos respectivos prontuários e constaram de: sexo, idade, diagnóstico clínico, sintomas e sinais, perfil bioquímico hormonal, complementado com exame neuroradiológico através de imagem por ressonância magnética pré-operatória e/ou tomografia computadorizada, classificados conforme a gradação radiológica de Hardy e evolução pós-operatória.

Os fragmentos tumorais foram fixados em formalina a 10%, incluídos em parafina, cortados na espessura de 5µm e corados pela Hematoxilina-Eosina (H-E) de rotina.

O perfil hormonal dos adenomas foi definido pela imunistoquímica realizada no Laboratório de Imunistoquímica do Centro de Atendimento Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da UNICAMP, utilizando-se o método da Avidina-Biotina-Peroxidase utilizando os anticorpos para hormônio do crescimento (GH), prolactina (PRL), hormônio foliculoestimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e hormônio tireotrófico (TSH) nas concentrações de 1/500, 1/100, 1/50, 1/50 e 1/50 respectivamente.

Foram realizadas reações imunistoquímicas para avaliação de marcadores, utilizando os anticorpos Ki 67, p53, menin, CD34, Galanina (GAL), para estudo de atividade proliferativa (Ki 67), atividade de gene supressor tumoral (p53 e Menin),

angiogênese (CD34) e presença do neuropeptídeo Galanina (GAL). Para isso cinco novos cortes foram feitos para cada caso, em lâminas silanizadas. A recuperação antigênica foi efetuada em panela a vapor.

Os anticorpos primários específicos p53 monoclonal anti-camundongo (DOT-7, cód. M7001, DAKOPPATS, Carpinteria, USA), Ki-67 monoclonal anti-camundongo (clone KiS5, cód. M 7187, DAKOPPATS, Carpinteria, USA), CD34 monoclonal anti- camundongo (clone QBEnd , 10cód.M 7165, DAKOPPATS, Carpinteria, USA), Galanina policlonal anti-coelho (cód. Ab 11073, Abcam, Cambridge, UK) e Menin policlonal anti-coelho (cód. Ab 2605, Abcam, Cambridge, UK), foram utilizados nas concentrações de 1/100, 1/50, 1/50, 1/1500 e 1/700 respectivamente.

Procedimento Laboratorial para a aplicação da técnica imunoistoquímica

- Desparafinização:

Lâminas em estufa a 110°C por uma hora;

Lavar das lâminas em xilol I a 110°;

Lavar em xilol II e III em temperatura ambiente;

Lavar em álcool absoluto I, II e III em temperatura ambiente;

Lavar em água corrente;

Lavar em água destilada.

- Bloqueio da peroxidase endógena com:

3 banhos em H₂O₂ a 10% com duração de 5 minutos cada;

Lavar em água corrente;

Lavar em água destilada.

- Recuperação antigênica: permanência das lâminas em tampão citrato 10nM pH 6,0 em panela elétrica a vapor por 30” a 95° C.

Lavar em água destilada

Imersão das lâminas em tampão fosfato (PBS)

- Aplicação do anticorpo primário específico:

Gotejar o anticorpo primário sobre o corte histológico.

Incubação em câmara úmida por 30” a 37°C.

Permanência dos cortes histológicos com anticorpo primário em refrigerador “*overnight*”.

Retirada das lâminas da incubação com o anticorpo primário;

3 lavagens em PBS à temperatura ambiente, em agitador, com duração de 5 minutos para cada lavagem.

- Aplicação do anticorpo secundário:

Depois de enxugar o PBS, gotejar o amplificador de reação (Envision®) sobre os cortes histológicos.

Incubação do anticorpo secundário por uma hora a 37°C;

Imersão das lâminas em PBS.

- Revelação:

Retirar as lâminas da solução de PBS;

Imersão das lâminas em solução:

- Diaminobenzidina(DAB) 60mg

-PBS aquecido a 37°C 100ml

-H2O2 a 30% 500µl

Dimetilsulfóxido (DMSO) 1ml

Permanência nessa solução por 5 minutos em estufa a 37°C.

Lavar as lâminas em água corrente; depois em água destilada.

- Contracorar com Hematoxilina de Mayer por 30 a 60 segundos, de acordo com a concentração.

Lavar as lâminas em água corrente.

Passar por alguns segundos em água amoniacal.

Lavar as lâminas em água corrente e depois em água destilada.

• Desidratação:

Lavar em álcool absoluto I, II e III em temperatura ambiente.

Lavar em xilol I, II e III em temperatura ambiente.

Montar das lâminas em resina Entelantm.

Para todas as reações foram feitos controles positivos e negativos.

Como controles positivos foram usados:

p53 – Carcinoma ductal infiltrante da mama: positividade nuclear.

Ki 67 – Centro germinativo de linfonodo: positividade nuclear.

CD34 – tecido hipofisário normal: coloração das células endoteliais de vasos apenas.

Galanina – tecido hipofisário normal: positividade em citoplasma de corticotrófos.

Menin – tecido hipofisário normal: positividade no núcleo de células adeno-hipofisárias.

Método da avaliação dos cortes histológicos tratados pela imunoistoquímica

Os 61 AH selecionados foram classificados de acordo com o perfil hormonal imunoistoquímico e agrupados de acordo com as diferentes síndromes resultantes de hipersecreção hormonal (acromegalia, síndrome de Cushing, galactorréia – amenorréia), ou por ausência de manifestações endócrinas e presença de sintomatologia de efeito de massa intracraniana.

O estudo morfométrico foi feito no programa IMAGELAB versão 2.4.

A avaliação dos marcadores Ki 67, p53 e menin foi realizada selecionando, em cada caso, 3 campos em áreas de maior concentração de núcleos corados positivamente em castanho escuro; o índice foi definido pela proporção de núcleos positivos encontrados em 3000 células (3 campos de 1000 células). A avaliação do número de vasos, foi realizada contando em 3 campos diferentes, no aumento de 200x, vasos marcados com o anticorpo CD34, e o índice da densidade microvascular (DMV) foi obtido pela média aritmética das 3 contagens.

A avaliação do marcador da Galanina foi realizada considerando reação positiva a coloração do citoplasma de células tumorais na cor castanho – escuro. A reação foi considerada negativa quando o citoplasma não adquiriu corante.

Sete hipófises normais, retiradas de autópsias, foram utilizadas como controle na avaliação da angiogênese. Foram coradas pelo método imunoistoquímico para o marcador CD34. A média dos índices de DMV, obtidos na avaliação dos sete exemplares de hipófise normal foi de 98; esse índice foi utilizado como parâmetro de comparação, para a avaliação da DMV nos macroadenomas da amostra em estudo.

Análise estatística

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias e desvios-padrão e medianas. Para as variáveis qualitativas foram calculadas as freqüências absolutas e relativas.

Para se testar a hipótese de igualdade entre os dois grupos foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, porque a hipótese de normalidade dos dados não foi verificada. Para a comparação de três ou mais grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Para se testar a homogeneidade entre proporções foi utilizado o teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher (que é indicado quando frequências esperadas forem menores do que 5).

Para o estudo de correlações entre os valores de KI 67 e p53 foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

O nível de significância utilizado para todos os testes foi de 5% (ROSNER, 1986).

RESULTADOS

A amostra dos 61 AH, está constituída de 57 macroadenomas (19 macroadenomas não invasivos e 38 macroadenomas invasivos) e 4 microadenomas. Os macroadenomas representam 93,4% da amostra, contra 6,5% de microadenomas, que de acordo com a classificação neuroradiológica de Hardy foram assim agrupados: 4 adenomas grau I (6,6%), 19 adenomas grau II (31,1%), 12 adenomas grau III (23%) e 26 adenomas grau IV (39,3%).

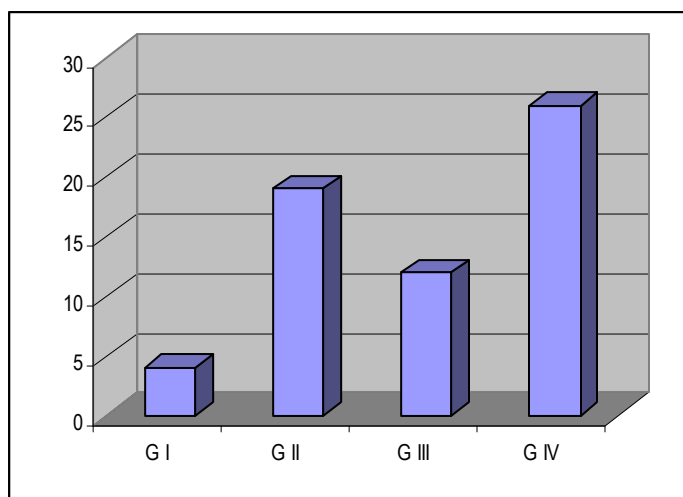


Gráfico 1- Distribuição dos AH da amostra segundo a classificação de Hardy, 1969

Quanto ao modo de crescimento, a frequência de invasão (AH graus III e IV) no total da amostra foi de 62,3% (gráfico 2). Os adenomas não invasivos (graus I e II) ocorreram com frequência de 37,7%.

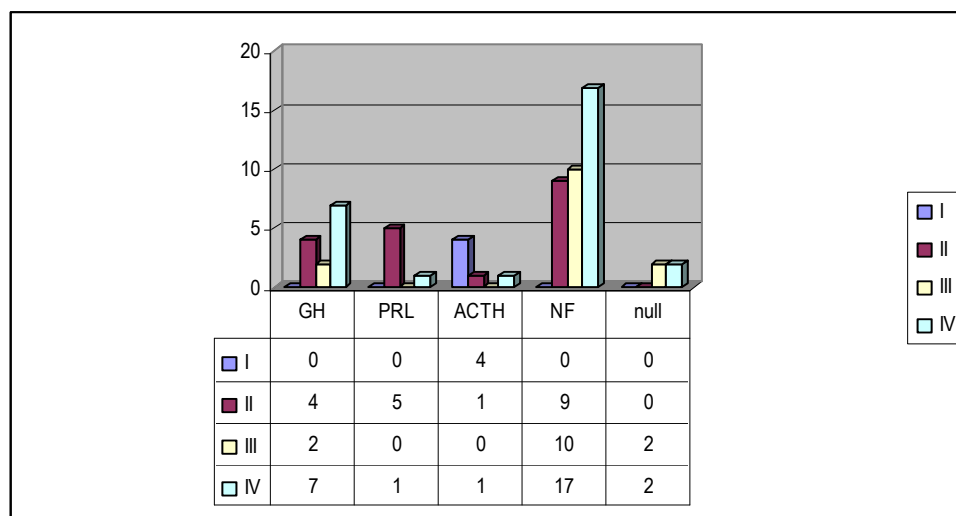


Gráfico 2- Padrão de crescimento, segundo a classificação de Hardy, 1969, nos AH classificados de acordo com o *status funcional*

Quanto aos **subtipos hormonais**, a **imunoistoquímica** revelou (Tabela 2):

- - 10 **Adenomas hipofisários (AH) produtores de prolactina (PRL)**: 4 AH mono hormonais e 6 pluri-hormonais (5 macroadenomas não invasivos e 5 invasivos).
- -18 **AH produtores de hormônio do crescimento (GH)**: 2 AH mono-hormonal, 7 bi- hormonais e 9 pluri-hormonais (5 macroadenomas não invasivos e 13 invasivos).
- -12 **AH produtores de corticotropina (ACTH)**: 7 AH mono-hormonais e 5 pluri-hormonais (4 microadenomas, 5 macroadenomas não invasivos e 3 macroadenoma invasivos).

- -17 **AH produtores de gonadotropinas**: 4 AH mono-hormonais (2 FSH e 2 LH), 13 bi-hormonais (FSH e LH) (4 AH não invasivos e 13 AH invasivos)
- 4 AH de células nulas: 4 invasivos (gráfico 3).

Tabela 2- Modo de crescimento X sub tipos hormonais

Imunoistoquímica	não invasivos	invasivos
GH	5	13
PRL	0	10
ACTH	9	3
Gonadot	4	13
Null	0	4
Total	18	43

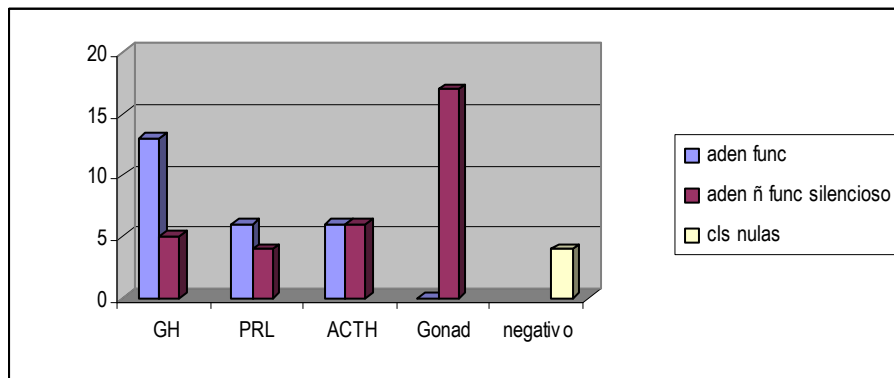


Gráfico 3- Distribuição dos subtipos hormonais ; GH= AH produtor de GH; PRL=AH produtor de PRL; ACTH= AH produtor de corticotropina (ACTH); Gonad = AH não funcionantes com imunoreação positiva para FSH e/ou LH

O maior número de adenomas invasivos está representado pelos AH com expressão positiva para GH e Gonadotrofinas. (p = 0,001).

De acordo com a **classificação funcional**, a amostra está constituída de (Tabela 3):

Vinte e cinco AH funcionantes (41%) e 36 AH não funcionantes (59%);

- - AH funcionantes:

6 AH produtores de PRL; 5 macroadenomas não invasivos e 1 invasivo.

13 AH produtores de GH; 4 macroadenomas não invasivos e 9 invasivos.

6 AH produtores de ACTH; 4 microadenomas, 1 macroadenoma invasivo e 1 macroadenoma invasivo.

- - AH não funcionantes:

Adenomas silenciosos:

5 AH produtores de GH; 4 macroadenomas invasivos e 1 não invasivo.

4 AH produtores de PRL; todos macroadenomas invasivos

6 produtores de ACTH; 2 macroadenomas invasivos e 4 não invasivos.

17 AH produtores de Gonadotrofinas; 14 macroadenomas invasivos e 3 não invasivos.

Adenomas de células nulas: 4 macroadenomas invasivos.

Sexo: 36% dos AH não funcionantes ocorreram no sexo feminino e 63,89% no masculino. Os AH não funcionantes foram mais freqüentes no sexo masculino (63, 89%) enquanto os funcionantes ocorreram com maior freqüência no sexo feminino (68%). Essa diferença entre os sexos no aspecto funcional dos AH é significativa ($p = 0,014$) (gráfico 6).

Modo de crescimento:

Todos os AH não funcionantes são macroadenomas, sendo 25% não invasivos e 75% invasivos. Entre os adenomas não funcionantes a ocorrência de invasão (graus III e IV) é significativamente maior quando comparada aos AH funcionantes (27 e 11 respectivamente) (p= 0,014).

Recidiva: 49% dos AH não funcionantes apresentaram recidiva.

Tabela 3- Subtipos hormonais X status funcional X classificação de Hardy

IMUNOISTOQUÍMICA	Status funcional	Nº	Grau I	GRAU II	GRAU III	GRAU IV
GH	F	1	0	0	0	1
GH,PRL	F	7	0	2	1	4
GH, PRL, FSH	F	5	0	2	1	2
PRL	F	3	0	2	0	1
PRL, PLURI HORMONAL	F	3	0	3	0	0
ACTH	F	4	2	1	0	1
ACTH PLURI HORMONAL	F	2	2	0	0	0
GH	NF	1	0	0	0	1
GH PLURI HORMONAL	NF	4	0	1	1	2
PRL	NF	1	0	0	0	1
PRL PLURI HORMONAL	NF	3	0	0	0	3
ACTH	NF	3	0	1	0	2
ACTH PLURI HORMONAL	NF	3	0	3	0	0
GONADOTROPINAS	NF	17	0	4	7	6
CELULAS NULAS	NF	4	0	0	2	2
TOTAL		61	4	19	12	26

Todos os AH silenciosos produtores de PRL são macroadenomas invasivos grau IV, diferindo significativamente dos adenomas funcionantes produtores de PRL, onde a porcentagem de macroadenomas invasivos grau IV foi de 16,67% (p=0,048).

Clinicamente, a sintomatologia neurológica e/ou psiquiátrica está presente nas queixas de 88% dos pacientes (gráfico 4). Os distúrbios visuais e a cefaléia predominaram sobre todas as queixas neurológicas.

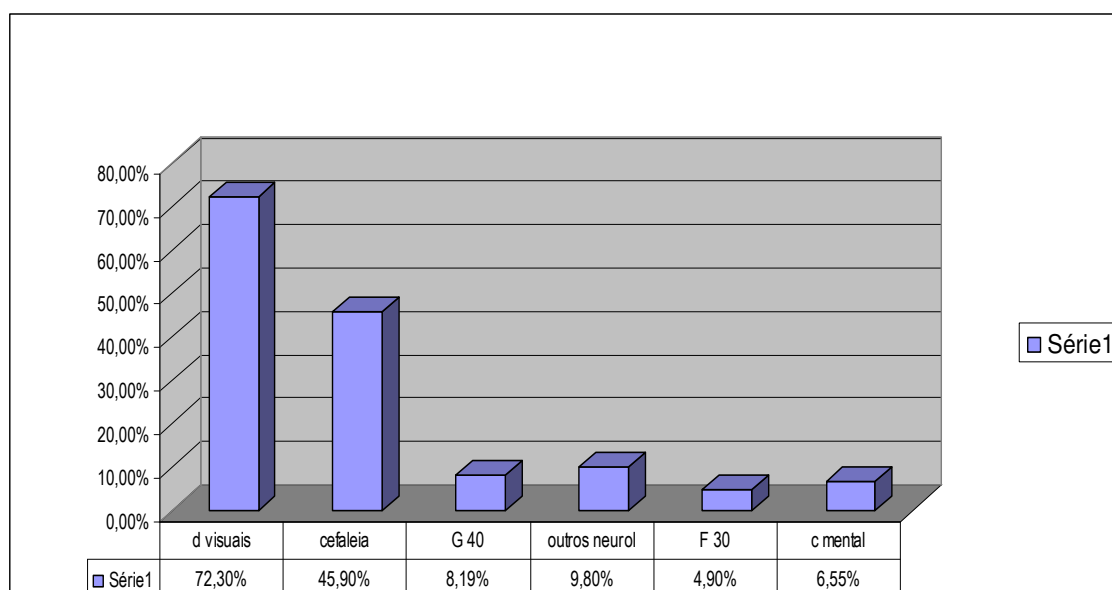


Gráfico 4- Sintomatologia neurológica e psiquiátrica; d visuais= distúrbios visuais; G40= crises convulsivas; outros neurol= outros sintomas neurológicos; F06.32 = depressão; c mental= confusão mental

A sintomatologia endócrina está presente em 42,62% dos casos (Tabela 4).

Tabela 4- Sintomatologia Endócrina

Sintomatologia endócrina	N°	♀	♂	Hardy				recidiva
				I	II	III	IV	
Acromegalia	7	2	5	0	3	0	4	3
Acro + galact	3	3	0	0	0	1	2	2
Acro + amenor	3	3	0	0	2	0	1	2
Galactorréia	1	1	0	0	1	0	0	0
Galac + Amenor	3	3	0	0	3	0	0	3
Galac + impot	1	0	1	0	1	0	0	0
Galac + ↓ libido	1	0	1	0	0	0	1	0
S. Cushing	3	2	1	3	0	0	0	1
S. Cushing + galac + hipotireoid	1	1	0	0	1	0	0	0
S. Cushing + Galac + Amenor	2	2	0	1	0	0	1	1
hipopituitarismo	1	1					1	
Total	25	17	8	4	11	1	9	13

Quanto ao sexo, 30 pacientes são do sexo feminino e 31 do sexo masculino, com relação de 1: 1,03.

A idade variou de 17 a 75 anos com média de 41,54 a ($\pm 14,02$ a e mediana de 43 anos; variação de 17 – 75 a). A média de idade feminina e masculina foi de 41,56 e 41,83 anos respectivamente. A incidência de AH, foi mais alta na quarta e quinta décadas de vida (gráfico 5).

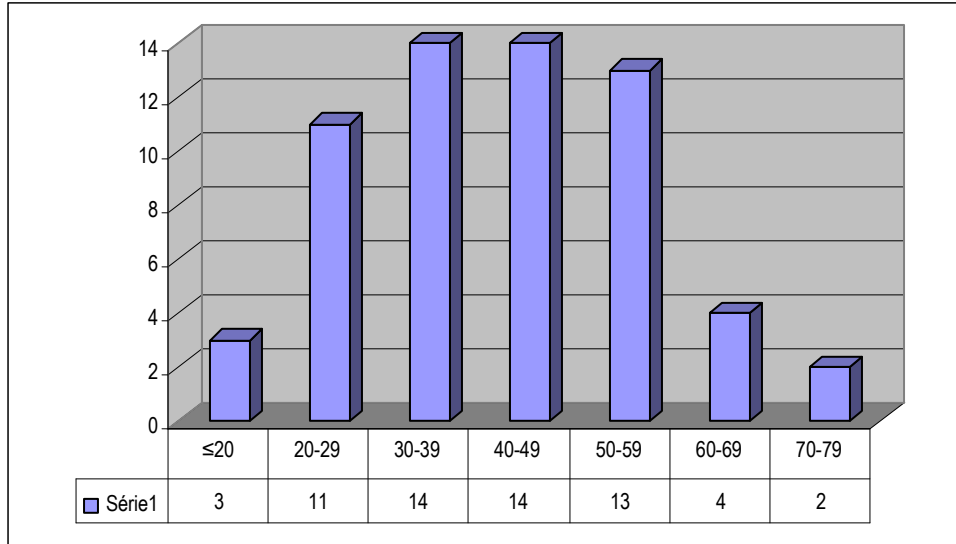


Gráfico 5- Distribuição dos AH nas faixas etárias

Quanto ao *status* funcional, adenomas não funcionantes são mais numerosos em relação aos funcionantes, com frequência de 59 % e 41% respectivamente, e entre os funcionantes, predominam os AH produtores de GH (gráfico 3).

Os AH não funcionantes foram mais frequentes no sexo masculino (63,89%), enquanto os funcionantes ocorreram com maior frequência no sexo feminino (68%). Essa diferença entre os sexos no aspecto funcional dos AH é significativa ($p = 0,014$) (gráfico 6).

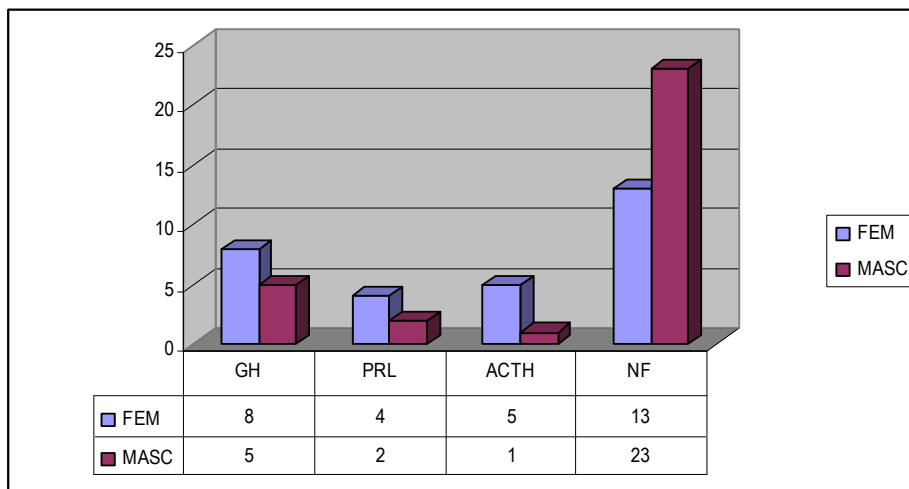


Gráfico 6- Distribuição dos adenomas nos sexos feminino e masculino; GH= AH produtorde GH de ; PRL=AH produtor de PRL; ACTH= AH produtor de corticotropina (ACTH); NF = adenomas não funcionantes

A recidiva tumoral ocorreu 32 pacientes (54,09%): 15 portadores de macroadenomas grau IV, 4 macroadenomas grau III , 11 macroadenomas grau II e 2 microadenomas (gráfico 7). Seis pacientes foram a óbito, no pós-operatório imediato, 3 portadores de adenomas grau III e 3 grau IV.

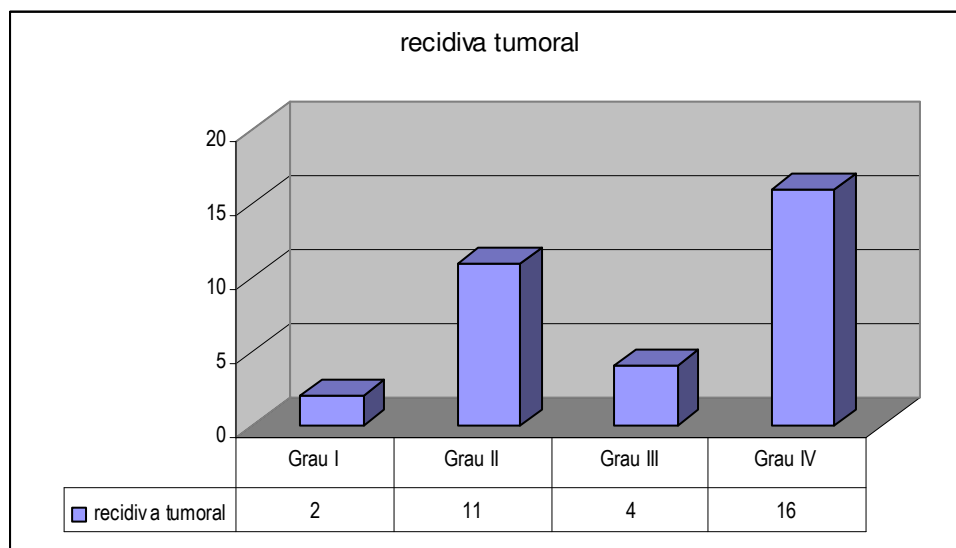


Gráfico 7- Recidiva tumoral

Ki 67 (Figura 9)

Cinquenta e um AH (83,69 %) exibiram imunoreação positiva ao Ki 67. A média do índice de proliferação celular no total da amostra foi de 4,39% ±7,90 % (mediana de 1,50%) com variação de zero a 36,9%.

Dezoito AH apresentaram índices de proliferação celular $\geq 3\%$ (Tabela 5): 9 produtores de GH funcionantes e 2 não funcionantes; 1 produtor de PRL funcionante e 1 não funcionante; 3 produtores de ACTH funcionantes; 1 produtor de FSH e 1 AH de células nulas.

Tabela 5- AH com índice de proliferação igual ou maior do que 3%.

caso	F/NF	Hardy	imuno hormonal	Ki 67(%)	P53(%)
1	F	IV	GH	36,9	1
2	F	II	GH,PRL	30	0,9
3	F	II	GH,PRL	7,2	0,3
4	F	IV	GH,PRL	27	1,3
5	F	III	GH,PRL	15,6	2,3
6	F	IV	GH,PRL	7,8	1,6
7	F	II	GH,PRL,FSH	27,7	4,2
8	F	II	GH,PRL,FSH	3,1	0
9	F	III	GH,PRL,FSH	13,8	2,1
10	F	IV	PRL	4	0
11	F	I	ACTH	3,4	0
12	F	II	ACTH	4	0
13	F	IV	ACTH	5,6	1,9
14	NF	II	GH,PRL,TSH	3,4	0
15	NF	IV	GH,PRL,FSH	15,1	4,6
16	NF	IV	PRL,FSH	3,1	0,6
17	NF	II	LH	3,4	0,8
18	NF	IV	null	14,5	16

Legenda: F/NF = funcionantes / não funcionantes; imuno hormonal = Imunoistoquímica hormonal.

Dez adenomas apresentaram Ki 67 negativo:

- 4 adenomas funcionantes- (2 produtores de GH (grau IV), um produtor de PRL (grau II), e um produtor de ACTH (grau I));
- 6 não funcionantes (grau IV)

Modo de crescimento e Ki 67 (tabela 6)

Tabela 6- Médias do índice de Ki 67 nos AH de graus I, II, III, IV; DP= desvio padrão; p=0,457

Hardy	Média (%)	DP(%)	Mediana(%)	Mínimo(%)	Máximo(%)	N de casos
I	1,03	1,60	0,35	0,00	3,40	4
II	4,93	8,61	2,10	0,00	30,00	19
III	3,45	5,29	1,24	0,40	15,60	12
IV	4,96	9,02	1,55	0,00	36,90	26

Nos AH não invasivos (23 AH graus I e II) o índice de proliferação celular foi de 4,25 % ($\pm 7,95$ % e mediana de 1,50%) (variação de zero a 30%) e nos AH invasivos (AH graus III e IV) de 4,48 % ($\pm 7,99$ % e mediana de 1,35%)(variação de zero a 36,9%) não apresentando diferença significativa entre os grupos (p=0,628).

Status funcional e Ki 67

Nos AH não funcionantes (n = 36) a média foi de 2,07% ($\pm 3,29$ % e mediana de 1,24%) e nos AH funcionantes (n = 25) 7,74% ($\pm 10,99$ % e mediana de 3,10%), não apresentando diferença significativa entre esses grupos (p=0,0765). Porém, esses dois grupos diferem significativamente quando comparamos a média dos índices de Ki 67 dos macroadenomas funcionantes invasivos (10,20% $\pm 12,14$) e não funcionantes invasivos (2,12% $\pm 3,76$) (p = 0,0328).

Produção hormonal e Ki 67

O estudo do índice de proliferação nos AH de diferentes tipos hormonais mostrou índice significativamente maior nos somatotropinomas, com média de 10,86 % ($\pm 11,99$ % e mediana de 5,30 %), em relação aos demais subtipos hormonais (p= 0,011).

Idade

Os índices de proliferação celular nas diferentes faixas etárias não mostrou significado estatístico em relação ao Ki 67 ($p=0,5469$).

Recorrência

Os índices de proliferação nos macroadenomas recorrentes apresentaram média de 3,85 % ($\pm 8,00\%$ e mediana de 1,4; variação de zero a 36,9%) e os não recorrentes 5,00 % ($\pm 7,91\%$ e mediana de 1,70 %, variação de zero a 27,7%), não havendo diferença significativa entre esses dois grupos ($p=0,4647$).

p53 (Figura 9)

Quanto à atividade de gene supressor tumoral, trinta e sete AH apresentaram imunoreação positiva para o anticorpo p53 (60,65 %). A média do índice de positividade no total da amostra foi de 1,23% ($\pm 2,41\%$ e mediana de 0,40) com variação de zero a 16%.

Modo de crescimento e p53 (tabela 7)

Tabela 7- Média dos índices de p53 nos AH de graus I, II, III e IV; $p=0,2961$

HARDY	MÉDIA	DP	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	NUM
I	1.50	3.00	0.00	0.00	6.00	4
II	0.64	1.06	0.30	0.00	4.20	19
III	1.28	1.17	1.22	0.00	3.90	12
IV	1.62	3.33	0.40	0.00	16.00	26

Nos AH não invasivos (AH graus I e II) a média do índice de positividade para o p53 foi de 0,79% ($\pm 1,50\%$ e mediana de 0,20%; variação de zero a 6 %) e nos invasivos (graus III e IV) foi 1,51% ($\pm 2,81\%$ e mediana de 0,60%; variação de zero a 16%) não havendo diferença significativa entre esses dois grupos ($p= 0,1343$).

Produção hormonal e p53

Não houve diferença significativa entre a média dos índices dos diferentes subtipos hormonais ($p=0,1172$)

Status funcional e p53

Nos AH funcionantes a imunoreação variou de zero a 6 %, com média de 0,91 % ($\pm 1,48$ % e mediana de 0,30%), e nos AH não funcionantes a reação mostrou variação de zero a 16%, com média de 1,46% ($\pm 2,89$ e mediana de 0,60%) não havendo diferença significativa entre esses dois grupos ($p=0,3842$).

Idade e sexo

A expressão do p53 nas diferentes faixas etárias foi mais alta nos pacientes da quarta década de vida com média de 2,03% $\pm 4,33$ %. O comportamento do p53 não mostrou diferença significativa nas diferentes faixas etárias ($p=0,9777$).

Recorrência e p53

A média da expressão do p53 nos AH recorrentes e não recorrentes foi de 1,10 % ($\pm 1,69$) e 1,39% ($\pm 3,05$) respectivamente, sem diferença significativa entre esses dois grupos ($p=1,00$).

Ki 67 X p53

Encontramos correlação positiva e significativa entre os valores do Ki 67 e p53; assim, quanto maior o valor do p53, maior o valor de Ki 67 e vice-versa ($p=0,0004$) (gráfico 8).

O índice do Ki 67 nos AH positivos para o p53 ($n=37$), foi 6,47% ($\pm 9,58$ %), significativamente maior do que o índice do Ki 67 nos AH p53 negativos ($n=24$), que foi 1,19 ($\pm 1,39$ %) ($p=0,0020$).

Há associação entre a positividade ou não do p53 e do Ki 67. O grupo com p53 positivo apresenta maior porcentagem de casos (91,9%) Ki 67 positivo do que o grupo p53 negativo (70,8%) (p=0,040)

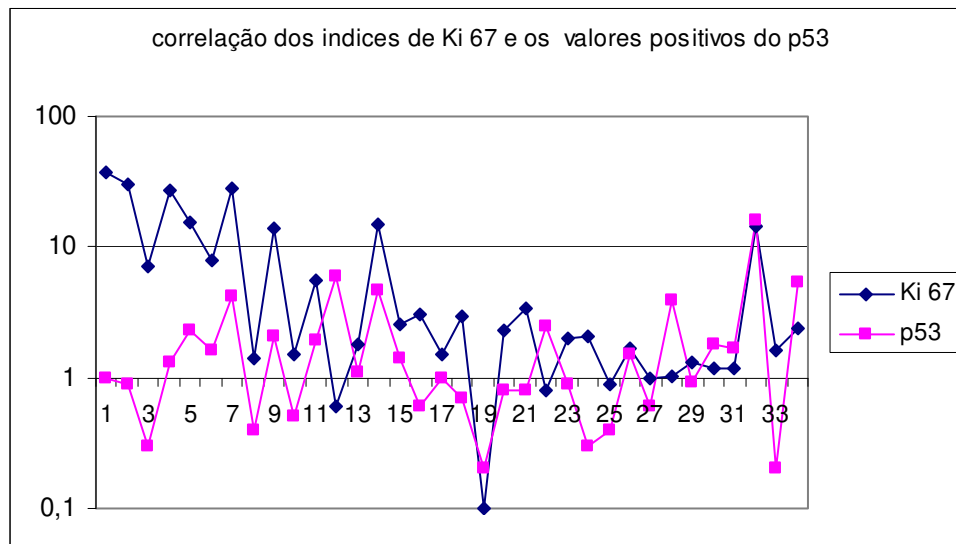


Gráfico 8- Correlação positiva entre os valores de Ki 67 e p53

CD34 (Figura 9)

A média da DMV, avaliada pelo marcador de angiogênese CD34, no total da amostra foi 68,77 ($\pm 37,51$, e mediana de 58,6; variação de 21 – 253).

Modo de crescimento e CD34 (tabela 8)

Tabela 8- Média do índice de DMV pelo CD34, nos AH de graus I, II, III e IV; p= 0,29

HARDY	MÉDIA	DP	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO	NUM
I	86.00	28.15	88.00	50.00	118.0	4
II	59.63	27.64	51.00	21.00	152.0	19
III	62.42	24.85	57.80	31.00	109.0	12
IV	75.73	47.45	70.00	23.00	253.0	26

A média da DMV nos AH não invasivos (graus I e II) foi 64,22 ($\pm 28,95$; mediana de 57 com variação de 21 – 152)); nos AH invasivos a média foi 71,53 ($\pm 41,99$ e mediana de 62,1; variação de 23 253) não havendo diferença significativa entre esses dois grupos ($p=0,6823$). Quando comparada com o estudo da DMV em hipófises normais, que mostrou índice de 98, os macroadenomas exibiram DMV inferior.

Produção hormonal e CD34

Não houve diferença significativa entre os índices de DMV, nos diferentes subtipos hormonais ($p=0,2965$)

Status funcional e CD34

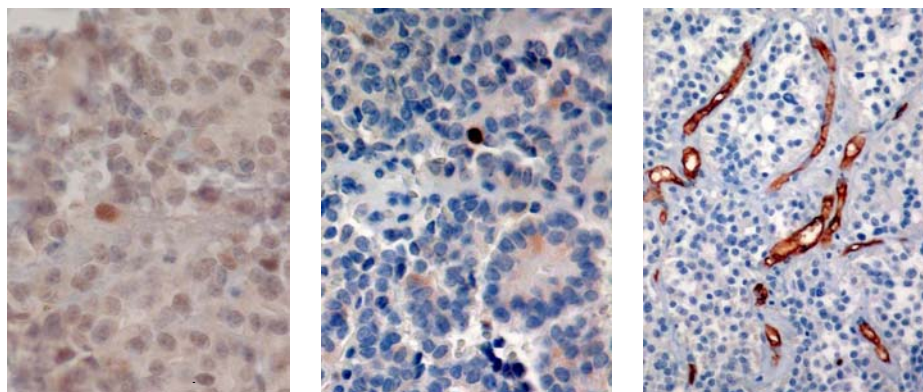
Os AH funcionantes apresentaram DMV média de 64,56 (\pm de 30,18 e mediana de 57) enquanto nos não funcionantes a média foi 71,69($\pm 42,03$ e mediana 63,3) não havendo diferença significativa entre os dois grupos ($p=0,5873$).

Idade e CD34

Não houve diferença significativa entre os índices de DMV nas diferentes faixas etárias ($p=0,2365$).

Recorrência e CD34

Os AH recorrentes apresentaram média da DMV 76,89 ($\pm 43,59$ e mediana de 68,5) e os não recorrentes de 59,81 ($\pm 27,44$ e mediana de 49) não havendo diferença significativa entre os dois grupos($p=0,0604$).



1

2

3

Figura 9- Imunoistoquímica com marcadores p53, Ki 67 e CD 34

Legenda: 1- 8990/06 p53 positivo (1,8%); 2- 3063/06 Ki 67 positivo (1,3%); 3- 8990/06 CD34 (DMV: 64).

Galanina (GAL) (Figura 10)

A imunoreação para GAL foi positiva em 35 AH (57,4 %) e negativa em 26 AH (42,6 %).

Modo de crescimento e GAL

Os AH não invasivos (graus I e II) apresentaram freqüência de positividade de 42, 86%, enquanto nos AH invasivos (graus III e IV) a freqüência de positivos foi de 57,14 %, não havendo diferença significativa entre esses dois grupos ($p=0,335$).

Produção hormonal e GAL

A imunoistoquímica para a GAL foi positiva em 11 adenomas produtores de GH, 5 AH produtores de PRL, 7 AH produtores de ACTH, 11 AH positivos para hormônio gonadotrófico. Entre os AH de células nulas, um apresentou reação positiva para GAL. Não houve diferença significativa entre esses grupos ($p = 0,692$).

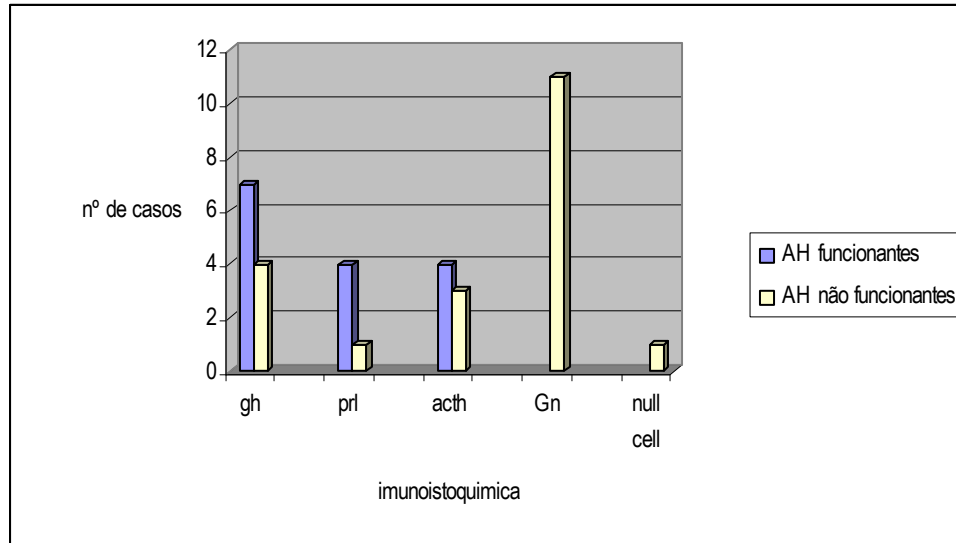


Gráfico 9- Distribuição dos subtipos hormonais GAL positivos; gh = AH positivos para hormônio do crescimento;

Prl= AH positivos para prolactina; acth= AH positivos para hormônio adrenocorticotrófico; Gn = AH positivos para gonadotropina; null cell AH de células nulas

Status funcional e GAL (gráfico 9)

Entre os AH funcionantes, 15 AH (42,86%) apresentaram imunoreação positiva para GAL, e 10 AH (38,46%) foram negativos. Entre os não funcionantes os AH positivos foram 20 (57,14%), e 16 (61,54%) foram negativos. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,730$)

Modo de crescimento e GAL

Entre os AH não invasivos (graus I e II), 8 AH (30,77%) foram negativos e 15 AH (42,86%) positivos; entre os adenomas não invasivos 18 AH (69,23%) foram negativos e 20 AH (57,14%) positivos; não houve diferença significativa entre esses grupos ($p=0,335$).

Idade e GAL

Não houve diferença significativa entre as diferentes faixas etárias ($p=0,700$)

Recorrência e GAL

Os resultados positivos ou negativos nos AH recorrentes e não recorrentes, não mostraram diferença significativa ($p=0,481$).

Ki 67 e GAL

O índice de proliferação avaliado pelo Ki 67 nos AH positivos para GAL foi de $3,74\% \pm 5,78\%$ (mediana $1,70\%$; variação de $0-36,9\%$).

O índice de proliferação nos AH negativos para GAL foi $5,28\% \pm 10,17\%$ (mediana $1,01\%$; variação de $0-27,70\%$).

Não houve diferença significativa entre esses parâmetros ($p=0,2572$).

P53 e GAL

O índice de p53 nos AH GAL positivos foi $1,17\% \pm 1,53\%$ (mediana de $0,50\%$; variação de $0,0 - 5,3\%$)

O índice de p53 nos AH GAL negativos foi $1,33\% \pm 3,28$ (mediana de $0,25\%$; variação de $0,0 - 16\%$)

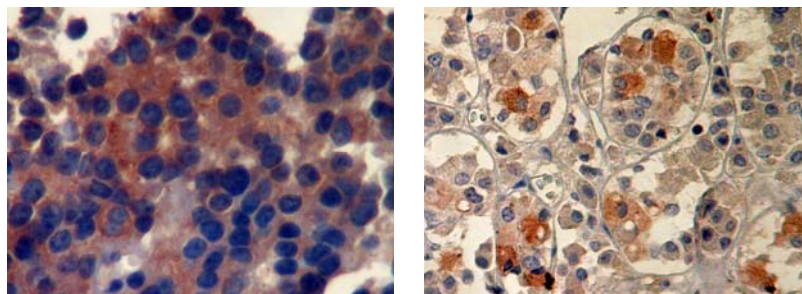
Não houve diferença significativa entre esses parâmetros ($p=0,2990$).

CD34 e GAL

A DMV nos AH GAL positivos foi $60,53 \pm 27,92$ (mediana de 52 ; variação de $21 - 152$)

A DMV nos AH GAL negativos foi $79,87 \pm 45,76$ (mediana de $75,50$; variação de $23 - 253$)

Houve diferença significativa entre esses parâmetros indicando que os AH GAL positivos apresentam DMV significativamente menores em relação aos AH GAL negativos ($p= 0, 0464$).



Caso 2741/99 positivo

Hipófise normal

Figura 10- Imunoistoquímica para galanina

Menin (Figura 11)

A imunoreação com o anticorpo menin apresentou fenótipos variáveis, o que modificou o método proposto inicialmente:

- Diferentes intensidades de cor castanha em núcleos, interpretadas como positivas, foram classificadas como (+) e (++), quando o sinal mostrou tonalidade castanha claro e castanha escuro respectivamente. A ausência de coloração foi classificada como negativa.
- A localização da positividade do marcador também mostrou variação. Assim os resultados positivos estiveram presentes apenas no núcleo ou apenas no citoplasma ou no núcleo e citoplasma.
- A imunoreação no tecido hipofisário normal, exibiu coloração nuclear (++) difusa, ao lado de algumas células cujo citoplasma mostrou imunoreação com coloração (+) focal.
- A estratificação da amostra, determinada pelos aspectos variáveis, prejudicou a morfometria proposta inicialmente. Assim os resultados serão apresentados de forma descritiva, sem o estudo estatístico.

Vinte AH (32,7%) apresentaram imunoreação negativa, ou seja, ausência de coloração acastanhada no núcleo e/ou citoplasma (Tabela 11a).

Nos 41 AH positivos para menin, 20 exibiram marcação exclusivamente localizada no núcleo; 16 AH exibiram coloração apenas no citoplasma e 5 AH no núcleo e citoplasma (Tabela 11b).

Modo de crescimento e menin

Sete AH não invasivos (1 AH grau I e 6 AH grau II), e 13 AH invasivos (2 AH grau III e 11 AH grau IV) apresentaram imunoreação negativa.

Status funcional e menin

Entre os AH não funcionantes 12 foram negativos e 24 positivos para menin, Entre os AH funcionantes, 8 apresentaram imunoreação negativa e 13 positivas.

Produção hormonal e menin (tabela 9)

Tabela 9- Subtipos hormonais e menin

nº	imunoistoquímica	menin pos	menin neg
18	GH	8	10
10	PRL	7	3
12	ACTH	9	3
17	FSH E OU LH	14	3
4	null	3	1

Entre os subtipos hormonais 41 AH foram positivos para menin e 20 negativos. Os AH produtores de GH apresentaram o maior número de menin negativos em relação aos demais e os produtores de gonadotrofinas o maior número de casos positivos.

Em um dos casos de AH produtor de ACTH, com quadro clínico da doença de Cushing, ocorreram concomitantemente adenomas endócrinos localizados na paratireóide, tireóide e pâncreas; a imunoreação para menin foi negativa, no núcleo e citoplasma, o que é sugestivo de adenoma associado à MEN-1.

Menin e Ki 67

Vinte AH com positividade para menin localizada no núcleo, apresentaram média do índice para Ki 67 de 1,93 % (variação de 0-14, 3%).

Cinco AH com positividade localizada no núcleo e citoplasma, apresentaram média de 3,8% (variação 0,6 – 13,8%).

Dezesseis AH com positividade localizada no citoplasma, apresentaram média de 5,68% (variação de 0 – 36,9%).

Vinte e um AH negativos, apresentaram média de 5,8% (variação de 0 – 27,7%).

Menin e p53

Vinte AH com positividade para menin localizada no núcleo, apresentaram média do índice de p53 de 2,02% (variação 0 -5,1%).

Cinco AH com positividade localizada no núcleo e citoplasma, apresentaram média de 2,5% (variação de 0 – 2,5%).

Dezesseis AH com positividade localizada no citoplasma, apresentaram média de 0,24% (variação de 0 – 0,9%).

Vinte e um AH negativos, apresentaram média de 1,36% (variação de 0 – 5,3%).

Menin e CD34

A DMV nos vinte AH com expressão positiva para menin localizada no núcleo foi de 62,7; quando a positividade esteve presente no citoplasma a DMV foi de 73,06, e quando localizada em núcleo e citoplasma foi 40,4.

A DMV nos AH negativos para menin foi de 72,7.

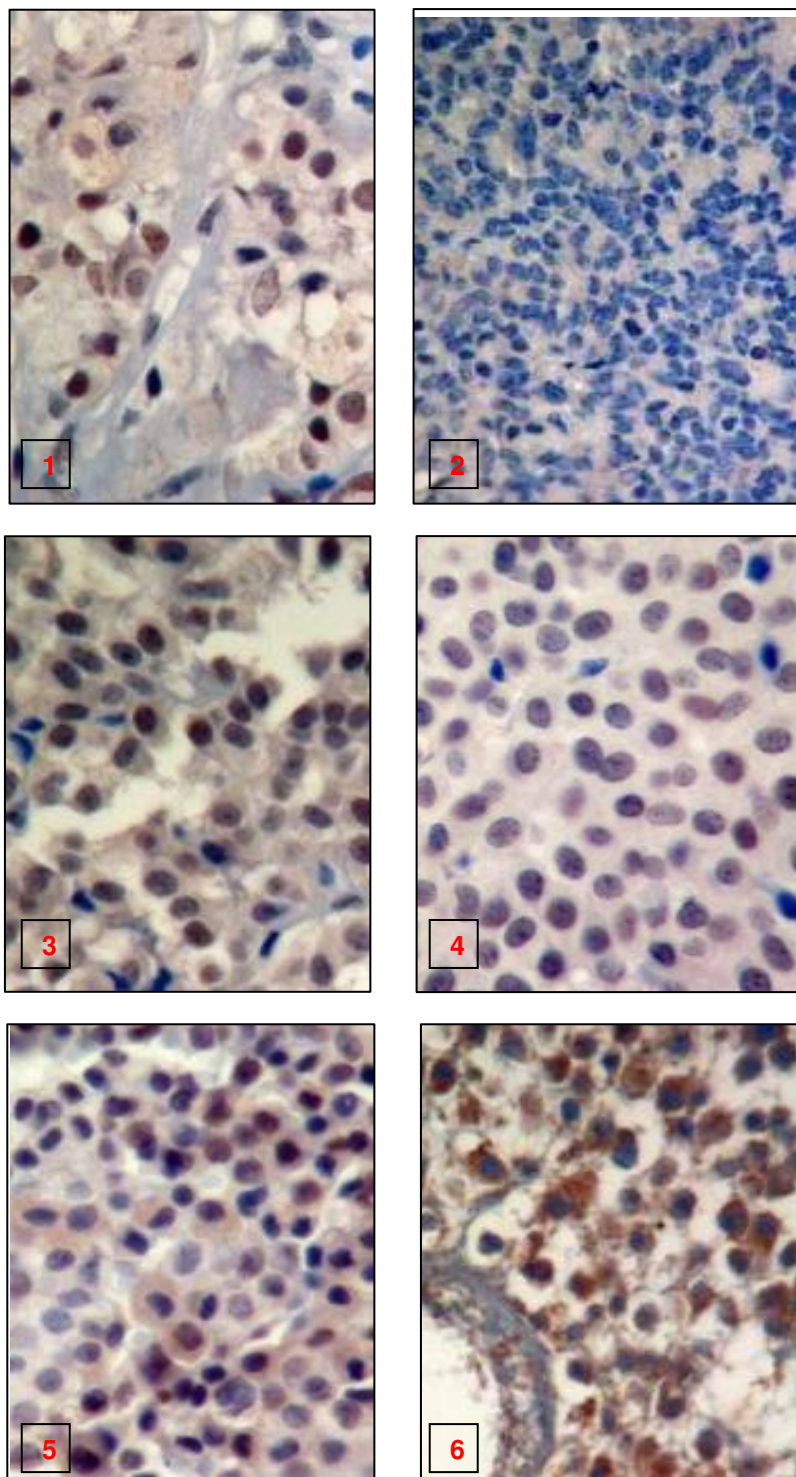


Figura 11- Imunoistoquímica para menin

Legenda: 1) Hipófise normal com reação positiva nuclear; 2) Caso 1689/02 negativo; 3) caso 3954/99, positivo ++ nuclear; 4) caso 1111/98 positivo + nuclear; 5) caso 3207/04, positivo nuclear e citoplasmático; 6) caso 7515/03, positivo citoplasmático

DISCUSSÃO

A literatura médica é rica em estudos dos AH, cujas séries exibem amostras que diferem entre si na porcentagem de cada subtipo hormonal (PIZZARO et al 2004; MASTRONARDI et al 2001; SCHEITHAUER et al 2006). As variações podem ser atribuídas às diferenças geográficas, ou aos protocolos adotados nos diversos serviços. Em alguns serviços os prolactinomas são raros em material cirúrgico, pela conduta de tratamento clínico de primeira escolha. (ASA & EZZAT 1998a). A homogeneidade do número de subtipos hormonais é uma característica das amostras multicêntricas (SCHEITHAUER et al, 2006; HENTCHEL et al, 2003; THAPAR et al, 1996a). Nossa amostra é unicêntrica.

Embora, sob o ponto de vista epidemiológico, os AH não funcionantes representem aproximadamente um terço de todos os AH (ASA et al 2001), na amostra deste estudo, há predomínio dos macroadenomas não funcionantes (59%); nesse subgrupo 39,3% são invasivos, de grau IV.

A amostra está constituída predominantemente por macroadenomas, o que é consistente com o a alta incidência de sintomas e sinais neurológicos, representados na maioria por distúrbios visuais e cefaléia. A ocorrência de maior número de macroadenomas não funcionantes, é possivelmente determinada pelo fato de sinais e sintomas endócrinos serem detectados mais precocemente do que sintomas de massa intracraniana; quanto aos sintomas de hipopituitarismo, muitas vezes podem passar despercebidos ou são menos incômodos do que o déficit visual e a cefaléia.

O registro das freqüências relativas dos subtipos hormonais na literatura é de 10 a 15% nos adenomas funcionantes produtores de GH, o que difere desta amostra onde os AH funcionantes produtores de GH, todos macroadenomas, estão presentes em maior número (21,31%) em relação aos prolactinomas e corticotropinomas (CHEUNG & ASA 2001; KOVACS et al 2001).

A tendência de extensão de alguns AH, para fora da sela túrcica, tem sido objeto de observação e estudo há décadas. As primeiras publicações de casos de AH na primeira metade do século XX relatam o interesse nos estudos de técnica e resultado de tratamento cirúrgico em adenomas com dimensões que ultrapassam os limites da sela

túrcica (FATOVIC & GNJIDIC 2006). A expansão do adenoma pode evoluir infiltrando as estruturas vizinhas, e esse comprometimento local afeta o resultado da cirurgia, contribuindo para a recidiva (NAM et al 2001), o que pode explicar a causa da frequência de recidivas nesta amostra, que foi de 52,5%.

O estudo da incidência de invasão em AH apresenta resultados variáveis, de 10%-85%, e depende do critério utilizado para definir a sua existência ou não (MASTRONARDI et al 1999; KITZ et al 1991; KNOSP et al 1991). O espectro de invasão pode ser avaliado pelo diagnóstico radiológico, observação intra-operatória, ou pelo exame microscópico da dura mater (GÜRLEK et al 2007).

A avaliação da invasão, nesta amostra, feita pelo método neuroradiológico, encontrou frequência de 62,3%. Os subtipos hormonais que mostraram maior frequência de invasão foram AH funcionantes produtores de GH e AH não funcionantes

Quanto ao sexo, a incidência no total da amostra foi igual em ambos, o que está de acordo com outros estudos publicados (KOVACS, et al 2001; EZZAT et al 2004). A análise de sexo nos subtipos hormonais demonstrou maior incidência de AH funcionantes produtores de GH, PRL e ACTH em mulheres jovens e AH não funcionantes em pacientes do sexo masculino, também semelhante aos resultados de outras publicações (EZZAT et al 2004).

Ki 67

O anticorpo monoclonal KiS5 reconhece proteínas com a mesma massa molecular de Ki 67, cuja imunoreatividade está confinada ao núcleo em atividade de divisão, à semelhança do Ki 67(HEIDEBRECHT et al 1996).

O Ki 67, antígeno associado à proliferação, pode ser detectado durante as fases G1, S, G2 e M, ou seja, durante todo o ciclo celular e, a medida do seu índice é considerada marcadora de proliferação celular normal ou anormal (GARZETTI et al, 1996; MASTRONARDI et al 2001). Na amostra estudada neste trabalho, o estudo imunistoquímico com o Ki 67, revelou atividade proliferativa em 83,69%, constatada através da imunoreação positiva em 51 macroadenomas (21 funcionantes e 30 não

funcionantes; 21 não invasivos e 30 invasivos). A média do índice de proliferação no total da amostra foi de $4,39\% \pm 7,90$ e mostrou larga faixa de variação (zero até 36,9%).

Os vários trabalhos publicados que tratam do índice de proliferação nos adenomas invasivos e não invasivos mostram resultados variáveis.

Landolt et al, em 1987, foram os primeiros a utilizar o Ki 67 em 31 AH em tecido fresco congelado onde todos apresentaram reação positiva ao Ki-67, com variação do índice de proliferação de 0,1% a 3,7%. Adenomas invasivos mostraram índices mais altos (média = 1,15%) em relação aos não invasivos (média = 0,60%) no trabalho pioneiro de Landolt et al 1987. Kitz et al 1991 encontraram em adenomas com infiltração comprovada da dura mater, índices de Ki-67 significativamente mais altos quando comparados aos adenomas não invasivos. Knosp et al 1991, estudaram o comportamento do Ki-67 em adenomas invasivos e não invasivos encontrando valores elevados nos invasivos.

Estudos com MIB-1 em AH, como o de Thapar et al 1996a, obtiveram médias de 4,66% em adenomas invasivos e 1,37 em adenomas não invasivos; nossos resultados em adenomas invasivos são semelhantes, 4,48%, e diferem nos AH não invasivos, que foi 4,25%. Mastronardi et al 2001, apresentaram médias do índice de proliferação de 3,73% em adenomas invasivos, semelhantes ao nosso resultado; difere desses autores, nossa média do índice nos adenomas não invasivos (4,25% X 2,03%). Wolfsberger et al, 2004 obtiveram média de 1,8% no total da amostra e índices de proliferação maiores em adenomas invasivos quando comparados a não invasivos.

Os resultados que obtivemos na comparação dos índices de proliferação dos AH invasivos e não invasivos não mostraram diferença significativa. Os valores elevados e semelhantes para o Ki-67, encontrados nos AH invasivos e não invasivos, mostram que a atividade proliferativa tumoral, da amostra, é alta tanto nos tumores invasivos como não invasivos, o que se assemelha aos achados de Scheithauer et al 2006 e Honeger et al 2003, que não encontraram diferença entre os índices de proliferação celular em adenomas invasivos e não invasivos.

Outros trabalhos são concordes com os nossos resultados. Lath et al, 2001, encontraram correlação da fração de crescimento e evidências clínicas de invasão, e apresentaram resultados estatisticamente não significantes quando compararam adenomas

invasivos e não invasivos (LATH et al 2001). Gandour-Edwards et al em 1995, estudaram e compararam o comportamento do Ki 67 em amostra de 10 adenomas invasivos envolvendo o seio esfenóide e 10 adenomas não invasivos, encontrando índices de proliferação variando de 50 a 75%, porém sem diferença significativa entre ambos os grupos. Os resultados obtidos em pesquisa de comportamento de MIB-1 em onze adenomas invasivos, por Nam et al, 2001, também se assemelham aos resultados deste estudo, pois esses autores também não encontraram evidências de relação entre invasão e índice de proliferação.

Índices mais elevados em adenomas invasivos, quando comparados com macroadenomas com ou sem extensão supra-selar, sugerem que a atividade proliferativa tumoral é significativamente alta tanto em tumores invasivos como não invasivos (SCHREIBER et al 1999; MASTRONARDI et al 1999). Thapar et al, 1996a embora tenham encontrado altos índices de proliferação em tumores invasivos, afirmam ser simplista relacionar a atividade proliferativa sozinha ao potencial proliferativo tumoral. Honegger et al, 2003, não encontraram relação entre Ki 67 e invasividade, mas, interpretou índices de proliferação aumentados nos AH como sinal de crescimento rápido (HONEGGER et al 2003).

A frequência da positividade do Ki 67 na amostra (84,3%) e os índices elevados de proliferação celular (em relação ao índice $\geq 3\%$ proposto pela OMS), encontrados nos adenomas invasivos e não invasivos desta amostra, somados à limitação do tratamento neurocirúrgico nos macroadenomas, poderiam sugerir correlação com a frequência de recidiva tumoral (52,5%), embora os índices de proliferação celular nos macroadenomas com ou sem recidiva não mostraram diferença significativa. Nosso resultado é concordante com Hentschel et al em 2003, que em estudo do índice de proliferação em amostra de adenomas não funcionantes recorrentes e não recorrentes, não encontraram diferença estatística significativa.

Os estudos publicados sobre índice de proliferação nos subtipos hormonais são variáveis, sendo que alguns autores não encontraram diferença significativa (PIZZARRO et al, 2004) e outros registraram índices estatisticamente significativos em corticotropinomas (MASTRONARDI et al 1999), em somatotropinomas e prolactinomas e em

somatotropinomas (LANDOLT et al 1987). Nosso estudo constatou valores significativamente mais elevados em macroadenomas somatotróficos.

Quanto ao status funcional, encontramos índices de proliferação maiores nos macroadenomas funcionantes quando comparados com os não funcionantes, (7,74% X 2,07%), porém sem significado estatístico. Thapar et al 1996a, Mastronardi et al 1999 e Wolfsberger et al 2004, encontraram índices de Ki-67 significativamente maiores nos adenomas funcionantes.

P53

O gene P53 é um supressor tumoral fundamental no processo de apoptose e defesa da célula contra o desenvolvimento tumoral. É regulador da transcrição do DNA e, ao parar o ciclo celular em G1, a proteína p53 permite que os mecanismos de reparação atuem sobre os erros espontâneos ou induzidos do DNA. Esse efeito controlador parece ser inativado pelas mutações do gene, o que confere propriedades proliferativas nas células danificadas, favorecendo o desenvolvimento de neoplasia. A expressão do p53 é observada em grande número de tumores (LEVINE et al 1991).

Experimentos imunoistoquímicos com p53 em AH, mostram resultados variáveis. Thapar et al 1996b demonstraram que a expressão do p53 em AH é incomum e está restrita às variantes agressivas, e estudando o comportamento do p53 em adenomas invasivos, não invasivos e metástases de carcinoma hipofisário, encontraram expressão positiva em 15,2% de adenomas invasivos, imunoreação negativa em todos os adenomas não invasivos e positividade de 100% nas metástases. Screiber et al 1999, obtiveram resultado negativo em adenomas não invasivos e Nam et al, 2001, encontraram 100% de negativos em 11 macroadenomas. Gandour-Edwards et al 1995, em adenomas invasivos no seio esfenoidal, não encontraram imunoreação em nenhum dos casos.

O estudo do comportamento do p53 em nossa série, mostrou resultados que diferem desses autores; houve positividade para o p53 em 60,65% do total da amostra. A média do índice de positividade no total da amostra foi de 1,23%. Os índices nos AH invasivos e não invasivos não apresentaram diferença significativa, porém o acúmulo

anormal dessa proteína nos macroadenomas, está indicando alteração do gene p53, ou estabilização da proteína por outros fatores. Os resultados obtidos neste estudo são semelhantes aos de Scheithauer et al,2006, que obtiveram índice de positividade de p53, com média de 0,4% em adenomas não invasivos, variação de 0 - 22%, e de 0,6% em adenomas invasivos com variação de 0-16%, sem diferença significativa entre os dois grupos.

Não houve diferença significativa entre os índices do p53 nas faixas etárias, e o maior índice foi encontrado na quarta década de vida e o menor na sétima década.

Os AH recorrentes e não recorrentes não mostraram diferença significativa com relação ao p53, em concordância com os resultados encontrados por Hentschel et al,2003.

Os AH não funcionantes apresentaram índice maior (1,46%) do que os funcionantes, estatisticamente não significante, concordando com os resultados registrados por Thapar et al, 1996b e Scheithauer et al, 2006.

Todos os subtipos hormonais da amostra apresentaram positividade para o p53, sendo que a média mais elevada do índice, foi encontrada nos AH de células nulas, porém sem diferença significativa entre os grupos.

Quatro macroadenomas da amostra apresentaram índices $\geq 3\%$, não havendo evidências de metástases, durante o acompanhamento pós-cirúrgico.

Ki 67 X p53

A comparação do índice de proliferação com a expressão do p53, mostrou correlação positiva entre os marcadores. A avaliação do índice de Ki 67 nos AH p53 positivos foi significativamente mais alta do que a média do índice Ki 67 nos macroadenomas negativos para o p53, o que está de acordo com os resultados observados por Thapar et al 1996b e Schreiber et al,1999. A porcentagem de Ki 67 positivos no grupo dos AH p53 positivos foi mais alta do que a porcentagem de Ki 67 positivos nos AH p53 negativos. Esse achado sugere que, nesta amostra, o p53 está relacionado ao índice de proliferação.

Embora 18 AH tenham apresentado índices de proliferação $\geq 3\%$, apenas um deles exibiu p53 extensamente positivo (16%), sendo, de acordo com a classificação da OMS, AH atípico. (Tabela 4)

CD34

A angiogênese tem importante papel em variados estados fisiológicos, sendo processo complexo, de múltiplos passos envolvendo remodelagem da matriz extracelular, migração de células endoteliais, proliferação e diferenciação e subsequente formação de luz dos novos vasos e produção de nova membrana basal. Muitos fatores estão envolvidos em cada passo da neovascularização, como o fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), e várias outras citocinas (YAMADA & TAKADA 2003).

A angiogênese também ocorre em várias condições patológicas como a retinopatia proliferativa diabética, artrite reumatóide e doença vascular oclusiva.

Pode ser representada como densidade microvascular tumoral (DMV), e é essencial para a proliferação e crescimento tumoral. As neoplasias não podem crescer sem a formação de novos vasos para suprir as células de oxigênio e outros nutrientes e remoção de catabólitos. Em vários tipos de tumores há correlação entre a DMV, tamanho tumoral e potencial metastático. A medida da DMV pode ser usada como um indicador prognóstico de agressividade neoplásica (VIDAL et al 2001).

Em AH, a DMV tem sido estudada por vários autores com objetivo de observar a relação entre angiogênese e comportamento tumoral. Os resultados encontrados por esses investigadores, mostram baixa DMV nos AH quando comparados com adeno-hipófise não tumoral, o que contrasta com resultados em outros órgãos, como mama, pulmão, próstata, onde os tumores são mais vasculares do que os tecidos não tumorais (YAMADA & TAKADA, 2003; VIDAL et al 2001).

Vários estudos com objetivo de acessar a medida de angiogênese, através da imunistoquímica em hipófises normais, AH, carcinomas hipofisários e metástases de carcinomas da hipófise mostram que AH apresentam baixa densidade vascular quando comparada com adeno-hipófise normal (VIDAL et al 2001; VIACAVA et al 2003).

O total da amostra estudada neste trabalho mostrou que a DMV nos AH (68,7), é menor em relação ao DMV em hipófises normais; esses resultados são concordantes com os vários estudos da literatura (YAMADA & TAKADA 2003; VIDAL, et al 2001; NIVERIO, et al 2005; TURNER, et al 2000). Pode ser que essa característica funcione como um fator de proteção, reduzindo a possibilidade de metástases.

Não houve diferença significativa da DMV entre os AH invasivos e não invasivos ($p=0,6823$), embora os AH invasivos tenham apresentado DMV maior do que os AH não invasivos (72,53 X 64,22); nem todos os AH invasivos da amostra apresentaram DMV elevada, sugerindo que outros fatores, diferentes de angiogênese, estão envolvidos com o potencial invasivo nos macroadenomas. Jugenburg et al, 1995 avaliaram a DMV em hipófises normais, AH, carcinomas hipofisários e metástases de carcinoma, não encontrando diferença significativa entre os valores da DMV em adenomas invasivos e não invasivos.

Nivério et al, 2005 encontraram os maiores índices de DMV em adenomas não funcionantes; Vidal et al, 2001, não encontraram diferença significativa entre a DMV de adenomas não funcionantes e funcionantes. Turner et al, 2000, encontraram DMV elevada, porém não significativa, em adenomas não funcionantes invasivos. Na nossa amostra, à semelhança de Nivério et al 2005, Vidal et al 2001 e Turner et al, 2000 embora sem significado estatístico ($p= 0,5873$), os macroadenomas não funcionantes apresentaram média de DMV maior em relação aos funcionantes.

Estudos da angiogênese em adenomas produtores de ACTH e macroprolactinomas, onde houve cura, constataram baixos índices de DMV nesses tumores. As hemorragias e lesões de estruturas anatômicas adjacentes ao tumor são sabidamente, fatores de risco limitantes da cura cirúrgica (TURNER et al, 2000).

Não encontramos neste estudo, relação significativa entre os macroadenomas recorrentes e angiogênese ($p=0,0604$), embora a DMV nesses macroadenomas recorrentes tenha sido maior em relação aos não recorrentes.

Quanto à relação da idade com a DMV, autores mostram resultados variáveis: Nivério et al, 2005¹ e Vidal et al, 2001¹, encontraram relação direta da DMV com a idade; Turner et al, 2000, relatam relação negativa entre DMV e idade em somatotropinomas. Em nossa amostra não houve diferença significativa entre a DMV e diferentes faixas etárias ($p=0,2365$), e maiores valores de DMV foram registrados na terceira década de vida e os menores a partir da quinta década. Não foi encontrada correlação significativa entre DMV e sexo.

Os resultados dos estudos da DMV nos adenomas de diferentes tipos hormonais são variáveis. Jugenburg M et al, 1995, encontraram os maiores índices de DMV em prolactinomas não tratados e os menores índices em somatotropinomas; Vidal et al, 2001, encontrou os menores índices em somatotropinomas; Nivério M et al, 2005 encontraram os maiores índices em adenomas produtores de TSH e adenomas não funcionantes; Turner et al, 2000 encontraram os menores índices em adenomas produtores de ACTH e em microprolactinomas. Outros estudos em AH e carcinomas da hipófise, revelaram a mais baixa porcentagem de DMV em somatotropinomas e o mais alto em carcinomas hipofisários (VIDAL, et al 2001).

A comparação dos índices de DMV entre os diversos subtipos hormonais, detectou índices mais baixos nos AH funcionantes produtores de PRL e os maiores nos AH não funcionantes imunoreativos ao PRL, porém sem significado estatístico.

Houve diferença significativa entre a média da DMV quando foram comparados os AH produtores de PRL funcionantes e silenciosos: os funcionantes mostraram DMV significativamente menor em relação aos AH silenciosos produtores de PRL ($p=0,0319$), o que pode ser importante fator preditivo para esse subtipo tumoral (WHO, 2004).

Alguns casos com DMV maiores até quatro vezes o valor da média, foram acompanhados de índice de proliferação maior que 3%, sem características morfológicas ou surgimento de metástases indicadores de carcinoma hipofisário.

Menin

Os primeiros estudos da expressão imunohistoquímica da proteína menin em hipófise normal, AH esporádicos e carcinomas hipofisários, resultaram em forte positividade nuclear em tecido hipofisário normal na maioria das células endócrinas, sem relação com o hormônio produzido (THEODOROPOULOU et al 2004); nos adenomas esporádicos a expressão de menin foi variável na intensidade da coloração, com alta porcentagem de células demonstrando a redução da imunoreatividade ao menin, quando comparada aos resultados obtidos com hipófise normal.

Os resultados encontrados neste estudo, onde a imunoreatividade foi positiva, também demonstraram redução da imunoreatividade, traduzida por variabilidade na intensidade da coloração, o que se assemelha aos resultados de Theodoropoulou et al, 2004, porém esses autores não encontraram resultados negativos nos AH esporádicos estudados, a não ser nas metástases de carcinoma hipofisário (THEODOROPOULOU et al 2004); também não houve relato de imunoreatividade fora do núcleo, o que difere dos nossos resultados.

Estudos anteriores aos de Theodoropoulous et al 2004, relatam perda da heterozigose, como causa da mutação do gene MEN-1 e expressão reduzida de menin em alguns adenomas, sugerindo a participação de outro gene supressor tumoral no mesmo locus, 11q13, envolvido na patogenia dessa neoplasia. (ASA et al 1998a)

A localização de menin é dependente da fase do ciclo celular: durante a fase de repouso, menin é encontrada no núcleo; durante e imediatamente depois da divisão celular, menin é encontrado no citoplasma, o que foi revelado em estudos com imunofluorescência (HUANG et al 1999).

Consta desta casuística, como já foi relatado acima, um único caso de paciente portadora de doença de Cushing, com adenoma hipofisário produtor de ACTH associado à adenomas de paratireóide, tireóide e pâncreas, com imunoreação negativa para menin, ou seja, provável mutação dessa proteína, o que é sugestivo de Síndrome de MEN-1. A história clínica dos demais portadores de AH com imunoreação negativa, não revelam

indícios semelhantes; os resultados deste estudo, só podem sugerir que é provável que haja mutação da proteína menin nos casos menin negativos pela imunoistoquímica.

A variabilidade da intensidade e localização da coloração resultantes do estudo imunoistoquímico com menin, neste trabalho, necessita de estudo genético complementar, com o objetivo de interpretar os resultados obtidos.

GALANINA

A GAL é sintetizada e liberada pela hipófise, fato verificado em estudos com roedores demonstrando que o conteúdo de GAL na hipófise e sua liberação é modulada por hormônios, peptídeos e neurotransmissores, o que lhe confere status hormonal, agindo através de mecanismo parácrino/autócrino (INVITTI et al 1999).

Lopez et al apresentaram evidências indicando que a GAL possui os critérios para ser considerada um hormônio hipotalâmico-hipofisiotrópico (LOPEZ et al 1991).

Controla várias atividades biológicas: regula a liberação do GH e PRL, reduz os níveis de dopamina na eminência mediana, inibe a liberação de insulina e somatostatina, inibe a liberação de acetilcolina no hipocampo, modula a contratilidade do músculo liso do trato gastrointestinal e trato geniturinário, regula a ingestão, gasto energético, balanço hídrico, aprendizado, resposta na lesão neural, e dor (LUDSTRON et al 2005; VRONTAKIS 2002; GRENBACK et al 2004). Esse espectro de funções indica que GAL é importante mensageiro de comunicação intercelular entre o sistema nervoso central e o eixo neuroendócrino (VRONTAKIS 2002).

A GAL e seus receptores são largamente distribuídos em todo o sistema nervoso. No sistema nervoso central está localizada especialmente no hipotálamo, incluindo a área pré-óptica, núcleo paraventricular, núcleo supraóptico e nervos terminais da eminência mediana, o que sugere sua participação nos processos neuroendócrinos de controle de secreção dos hormônios hipofisários na adeno-hipófise. (HÖKFELT, 2005; BARANOWSKA-BIK et al, 2005).

A GAL aumenta a secreção de GH não apenas em modelos animais, mas também em humanos.

Em hipófise de ratos a GAL está presente nos lactotrofos, enquanto em humanos é expressa nos corticotrofos, fibras nervosas da adeno-hipófise e fibras da neuro-hipófise (VRONTAKIS et al 1987; LEUNG et al 2002).

Berger et al., em 2005, mostraram através da expressão imunistoquímica da GAL e de receptores da GAL em tumores endócrinos, que a imunoreatividade à GAL é um achado comum em gliomas humanos, feocromocitomas, tumores neuroblásticos e tumores hipofisários; a co-expressão de GAL e seus receptores indicam que a ação da GAL na patologia celular tumoral ocorre via mecanismos autócrino/parácrinos (BERGER et al 2005).

Estudos da imunoreatividade com GAL em tumores hipofisários, mostram positividade nos adenomas produtores de ACTH (HSU et al. 1991, SANO et al 1991, VRONTAKIS et al. 1990, LEUNG et al. 2002), adenomas produtores de GH, prolactinomas e em adenomas não funcionantes (HSU et al. 1991, LEUNG et al. 2002).

Os estudos com GAL nos AH da amostra deste trabalho mostraram resultados que estão de acordo com os obtidos por esses autores: a positividade da galanina esteve presente em AH produtores de GH, PRL, ACTH e AH não funcionantes.

Grenbäck et al em 2004, dosaram GAL em extratos de AH usando radioimunoensaio como método, encontrando altos níveis de GAL em AH produtores de ACTH, níveis moderados em AH não funcionantes e baixos níveis ou ausência em AH produtores de GH e PRL; nesse mesmo trabalho encontrou relação inversa entre volume tumoral e níveis de GAL em AH produtor de ACTH. Leung B et al em estudo imunistoquímico para GAL em AH, constataram que pacientes portadores de AH GAL positivos apresentavam tumores menores e boa evolução pós cirúrgica (LEUNG et al 2002).

Os AH mais agressivos da nossa amostra, representados pelos macroadenomas invasivos, graus III e IV, apresentaram maior frequência de ausência de GAL, caracterizada pela imunoreação negativa, porém sem significado estatístico. Quanto ao status funcional,

houve maior frequência de resultados negativos (61,4%) em AH não funcionantes , porém não significativo. A frequência de adenomas GAL positivos ou negativos não apresentou correlação com idade, sexo, ou recorrência, o que já foi relatado em trabalhos anteriores por outros autores (LEUNG et al 2002; GRENBÄCK et al 2004)

O estudo do comportamento dos marcadores de proliferação celular, atividade de gene supressor tumoral e angiogênese nos AH com presença ou ausência de GAL, foi avaliada pela primeira vez neste trabalho. Os AH positivos ou negativos para GAL não mostraram correlação significativa com os marcadores p53 e Ki 67. Com relação ao CD34, os AH GAL negativos exibiram DMV significativamente maior quando comparados aos AH GAL positivos ($p=0,0464$), o que indica que os AH negativos para GAL são mais vascularizados, podendo se correlacionar com comportamento mais agressivo.

A localização dos genes da Galanina e MEN 1 em 11q13, ambos envolvidos no desenvolvimento de AH, sugerem que essa localização pode fornecer mais informações e pesquisas.

CONCLUSÕES

A análise dos parâmetros utilizados no estudo desta amostra permitem as seguintes conclusões:

- Em material cirúrgico, AH classificados como macroadenomas foram os mais freqüentes.
- Entre os macroadenomas os não funcionantes ocorreram em maior número, o que sugere que são diagnosticados tardiamente, pela ausência ou escassez de sintomas endócrinos. Esse fator eleva o número de recidivas tumorais.
- As recidivas não se relacionaram ao grau de Hardy nesta amostra.
- Homens e mulheres são igualmente afetados porém, adenomas não funcionantes são mais freqüentes no sexo masculino; os funcionantes incidem com maior freqüência no sexo feminino.
- A expressão do Ki 67 ocorreu em 83,9% e variou muito: de 0 a 36,9%, com média de 4,39%, sendo que não se associa à recidiva, e esta larga faixa de variação sugere que o Ki 67 não pode ser considerado fator prognóstico em casos isolados.
- O Ki 67 mostrou que o índice de proliferação dos macroadenomas funcionantes invasivos é maior em relação aos não funcionantes invasivos. O Ki 67 pode ser útil como marcador biológico de comportamento agressivo.
- Os somatotropinomas apresentam maior índice de proliferação quando comparado aos adenomas funcionantes e não funcionantes.
- O p53 foi positivo em 60,65% dos AH, com expressão variando de zero a 16% das células e média de 1,23%, não havendo diferença de expressão entre os AH invasivos e não invasivos, entre os diferentes subtipos hormonais, nem entre os tumores funcionantes e não funcionantes, e não esteve associado à recorrência e portanto não é marcador de prognóstico para os AH.

- O p53 está associado ao índice de proliferação.
- O índice de proliferação (Ki 67) nos AH não está relacionada à DMV o que sugere a ação parácrina ou autócrina de outros hormônios ou substâncias ainda não identificadas.
- A DMV não é um bom critério para prognóstico nos AH.
- A expressão da GAL é um achado freqüente nos vários subtipos tumorais e não está relacionada ao índice de proliferação, à atividade de gene supressor tumoral (p53), portanto não é um fator de prognóstico.
- A angiogênese, nesta amostra está relacionada à ausência de produção de GAL pelas células tumorais, o que significa que AH negativos para GAL são mais vascularizados, o que pode significar maior comportamento biológico mais agressivo nesses tumores.
- A grande variabilidade da expressão do marcador Menin comprometeu a interpretação objetiva dos resultados.
- Os AH constituem uma categoria de neoplasias, com características que diferem acentuadamente das demais, no que diz respeito a crescimento, invasão e recorrência, marcadores de proliferação celular, de angiogênese e de expressão do p53.

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

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

Aron DC, Findling JW, Tyrrell LB. Hipotálamo e hipófise. In: Greenspan A & Strewler GJ. **Endocrinologia Básica e Clínica**, 5º ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2000. p.69-112.

Asa SL, Horvath E, Kovacs KT. Functional pituitary anatomy and histology. In: Melmed S. **Endocrinology**. 4ª ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p.168-182.

Asa SL, Ezzat S. The cytogenesis and pathogenesis of pituitary adenomas. **Endocr. Rev.** 1998a; 19(6):798-827.

Asa SL, Somers K, Ezzat S. The gene MEN-1 is rarely down-regulated in pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab**. 1998b; 83(9):3210-2.

Asteria C, Anagni M, Persani L, Beck-Peccoz P. Loss of heterozygosity of MEN1 gene in a large series of TSH secreting pituitary adenomas. **J Endocrinol Invest**. 2001; 24(10): 796-801.

Balogh K, Rácz K, Patócs A, Hunyady L. Menin and its interacting proteins: elucidation of menin function. **Trends Endocrinol Metab**. 2006; 17(9): 357-64.

Baranowska-Bik A, Baranowska B, Wolinska-Witort E, Chmielowska M, Martynska L, Bik W. Galanin modulates pituitary hormones release. **Neuro Endocrinol Lett**. 2005; 26(5):468-72.

Berger A, Santic R, Hauser-Kronberger C, Schilling FH, Kogner P, Ratschek M, Gamper A, Jones N, Sperl W, Kofler B. Galanin and galanin receptors in human cancers. **Neuropeptides**. 2005; 39: 353-9.

Burrow GN, Wortzman G, Rewcastle NB, Holgate RC, Kovacs K. Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. **N Engl J Med**. 1981; 304(3):156-8.

Burrows HL, Douglas KR, Seasholtz AF, Camper SA. Genealogy of the anterior pituitary gland: tracing a family tree. **Trends Endocrinol Metab**. 1999; 10(9):343-52.

Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, Olufemi SE, Collins FS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Liotta LA, Crabtree JS, Wang Y, Roe BA, Weisemann J, Boguski MS, Agarwal SK, Kester MB, Kim YS, Heppner C, Dong Q, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. **Science**. 1997; 276(5311):404-7.

Cheung CC & Asa S. Pathology of the pituitary gland. In: LiVolsi VA & Asa SL. **Endocrine Pathology**. 1º ed. New York: Churchill Livingstone; 2001. p.31-59.

Costa SC, Nascimento LS, Ferreira FJ, Matos PS, Camara-Lopes LH, Ward LS. Lack of mutation of exon 2 of the MEN1 gene in endocrine and nonendocrine sporadic tumors. **Braz J Med Biol Res**. 2001; 34(7):861-65.

Courseaux A, Grosgeorge J, Gaudray P, Pannett AA, Forbes SA, Williamson C, Bassett D, Thakker RV, Teh BT, Farnebo F, Shepherd J, Skogseid B, Larsson C, Giraud S, Zhang CX, Salandre J, Calender A. Definition of the minimal MEN1 candidate area based on a 5-Mb integrated map of proximal 11q13. The European Consortium on Men1, (GENEM 1; Groupe d'Etude des Neoplasies Endocriniennes Multiples de type 1). **Genomics**. 1996; 37(3):354-65.

Crawley JN. Biological actions of galanin. **Regul Pept**. 1995; 59:1-16.

Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, Valdes-Socin H, Rohmer V, Tamburrano G. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab**. 2006 91(9):331623. Epub 2006 Jun 20.

Daughaday WH Hipófise anterior in: Wilson JD & Foster DW **Tratado de endocrinologia** 7ª ed S. P Editora Manole; 1998, 704-759.

Dietmann JL, Kehrlí P, Maillot C, Diniz R, Reis M, Neugroschl C. Is there a dural wall between the cavernous sinus and the pituitary fossa? **Neuroradiology** 1998; 40(10) 627-30.

Donangelo I, Melmed S. Pathophysiology of pituitary adenomas. **J Endocrinol Invest**. 2005; 28(11):100-5.

Elster AD. Modern imaging of the pituitary. **Radiology**. 1993; 187:1-14.

Evans HF, Shine J, Human Galanin: molecular cloning reveals a unique structure **Endocrinology** 1991; 129(3): 1682-84.

Ezzat S, Asa SL, Couldwell WT, Barr CE, Dodge WE, Vance ML, McCutcheon IE. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. **Cancer**. 2004; 101(3):613-9.

Faglia G, Spada A. Genesis of pituitary adenomas: state of the art. **J Neurooncol**. 2001; 54:95-110.

Farrell WE, Clayton RN. Epigenetic change in pituitary tumorigenesis. **Endocr Relat Cancer**. 2003; 10:323-30.

Fatovic Ferencic S, Gnjidic Z Sellar region surgery in Croatia in the first half of 20th century. **Croat Med J**. 2006 ;47(2):310-7.

Ferreira JEA, Mello PA, Magalhães AV, Botelho CHA, Naves LA, Nosé V, Schmitt F, Caracterização clínica e imunoistoquímica dos adenomas clinicamente não funcionantes de hipófise **Arq Neuropsiquiat Arq Neuropsiquiat** 2005; 63(4):1070-78.

Ferrini SF, Rossi MA, Mourão Neto M, Soares FA. Sshirrous invasive ductal carcinoma of the breast overexpress p53 oncoprotein **Rev Paul Med** 2001; 119(1):4-6.

Fontaniere S, Casse H, Bertolino P, Zhang CX. Analysis of p27(Kip1) expression in insulinomas developed in pancreatic beta-cell specific Men1 mutant mice. **Fam Cancer**. 2006; 5(1):49-54.

Gandour-Edwards R, Kapadia SB, Janecka IP, Martinez AJ, Barbes L. Biologic markers of invasive pituitary adenomas involving the sphenoid sinus. **Mod Pathol** 1995; 8(2):160-4.

Garzetti GG, Ciavattini A, De Nictolis M, Lucarini G, Goterj G, Romanini C, Biagini G. MIB 1 immunostaining in cervical intraepithelial neoplasia: prognostic significance in mild and moderate lesions. **Gynecol Obstet Invest**. 1996; 42(4): 261-6.

Giannella MLCC, Giannella D. Deficiência múltipla hipotalamo hipofisária: defeito no gene "Prophet de Pit1" (Prop 1). **Arq Bras Endocrinol Metab**. 2000; 44(2):162-74.

Grenback E, Bjellerup P, Wallerman E, Lundblad L, Anggard A, Ericson K, Aman K, Landry M, Schmidt WE, Hokfelt T, Hulting AL. Galanin in pituitary adenomas. **Regul Pept**. 2004; 15; 117(2):127-39.

Gurlek A, Karavitaki N, Ansorge O, Wass JA. What are the markers of aggressiveness in prolactinomas? Changes in cell biology, extracellular matrix components, angiogenesis and genetics. **Eur J Endocrinol.** 2007; 156(2):143-53.

Guru SC, Manickam P, Crabtree JS, Olufemi SE, Agarwal SK, Debelenko LV. Identification and characterization of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. **J Intern Med.** 1998a; 243(6):433-9.

Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS, Chandrasekharappa SC. Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1998b; 95(4):1630-4.

Hardy J, Transphenoidal microsurgery of the normal and pathological pituitary. **Clin Neurosurg** 1969; 16:185-217.

Heaney AP, Melmed S. New Pituitary Oncogenes. **Endocr Relat Cancer.** 2000; 7(1):3-15.

Heidebrecht HJ, Buck F, Haas K, Wacker HH, Parwaresch R. Monoclonal antibodies Ki S3 e KiS5 yeld new data on the Ki 67 proteins. **Cell Prolif** 1996; 29(7) 413-425.

Hentschel SJ, McCutcheon E, Moore W, Durity FA p53 and MIB-1 immunohistochemistry as predictors of the clinical behavior of non functioning pituitary adenomas. **Can J Neurol Sci** 2003 30(3):215-9.

Hökfelt, T Galanin and its receptors: introduction to the Third International Symposium, San Diego, California, USA, 21-22 October 2004. **Neuropeptides.** 2005; 39(3):125-42.

Holm R, Skomedal H, Helland A, Kristensen G, Børresen AL, Nesland JM. Immunohistochemical analysis of p53 protein overexpression in normal, premalignant, and malignant tissues of the cervix uteri. **J Pathol.** 1993; 169(1):21-6.

Honegger J, Prettin C, Feuerhake F, Petrick M, Schulte-Monting J, Reincke M Expression of Ki-67 antigen in non functioning pituitary adenomas: correlation with growth velocity and invasiveness **J Neurosurg** 2003; 99(4): 674-9.

Horvath E. Ultrastructural markers in the pathologic diagnosis of pituitary adenomas. **Ultrastruct Pathol.** 1994; 18(1-2):171-9.

Horvath E, Lloyd RV, Kovacs K. Propylthiouracyl-induced hypothyroidism results in reversible transdifferentiation of somatotrophs into thyroidectomy cells. A morphologic study of the rat pituitary including immunoelectron microscopy. **Lab Invest.** 1990; 63(4):511-20.

Hsu DW, Hooi SC, Hedley-Whyte ET, Strauss RM, Kaplan LM. Coexpression of galanin and adrenocorticotrophic hormone in human pituitary and pituitary adenomas. **Am J Pathol.** 1991 138(4):897-909.

Huang SC, Zhuang Z, Weil RJ, Pack S, Wang C, Krutzsch HC, Pham TA, Lubensky IA. Nuclear/cytoplasmic localization of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene product, menin. **Lab Invest.** 1999; 79(3):301-10.

Invitti C, Pecori Giraldi F, Dubini A, Moroni P, Losa M, Piccoletti R, Cavagnini F. Galanin is released by adrenocorticotropin-secreting pituitary adenomas in vivo and in vitro. **J Clin Endocrinol Metab.** 1999; 84(4):1351-6.

Ironside JW. Best Practice No 172: pituitary gland pathology. **J Clin Pathol.** 2003; 56(8):561-8.

Jugenburg M, Kovacs K, Stefanescu L, Scheithauer BW. Vasculature in nontumorous hypophyses, pituitary adenomas, and carcinomas: a quantitative morphologic study. **Endocr Pathol.** 1995; 6(2):115-124.

Kane LA, Leinung MC, Scheithauer BW, Bergstralh EJ, Laws ER Jr, Groover RV, Kovacs K, Horvath E, Zimmerman D. Pituitary adenomas in childhood and adolescence. **J Clin Endocrinol Metab.** 1994; 79(4):1135-40.

Kim K, Yamada S, Usui M, Sano T. Co-localization of honeycomb golgi and ACTH granules in a giant ACTH-producing pituitary adenoma. **Endocr Pathol.** 2005; 16(3): 239-44.

King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. **Annu Rev Physiol.** 1998; 60:601-17.

Kitz K, Knosp E, Koos WT, Korn A Proliferation in pituitary adenomas—measurement by MAb Ki 67 **Acta Neurochir suppl** (Wien) 1991; 53:60-4.

- Knosp E, Kitz K, Steiner E, Matula C Pituitary adenomas with parasellar invasion **Acta Neurochir Suppl (Wien)** 1991; 53:65-71.
- Kohler MF, Carney P, Dodge R, Soper JP, Clarke-Pearson DL, Marks JR. p53 overexpression in advanced-stage endometrial carcinoma. **Am J Obstet Gynecol** 1996; 175(5) 1246-52.
- Kontogeorgos G. Innovations and controversies in the WHO classification of pituitary adenomas. **Acta Neuropathol (Berl)**. 2006b; 111(1):73-5.
- Kontogeorgos G. Predictive markers of pituitary adenoma behavior. **Neuroendocrinology**. 2006a; 83(3-4):179-88.
- Kovacs K. The 2004 WHO classification of pituitary tumors: comments. **Acta Neuropathol (Berl)**. 2006; 111(1):62-3.
- Kovacs K, Horvath E, Vidal S. Classification of pituitary adenomas. **J Neurooncol**. 2001; 54:121-7.
- Kovacs K, Ryan N, Horvath E, Singer W, Ezrin C. Pituitary adenomas in old age. **J Gerontol**. 1980; 35:16–22.
- Kujas M. Pituitary adenomas. **Ann Pathol**. 2001; 21(3):237-43.
- Landolt AM, Shibata T, Kleihues P. Growth rate of pituitary adenomas. **J Neurosurg** 1987; 67(6):803-6.
- Lania A, Mantovani G, Spada A. Genetics of pituitary tumors: Focus on G-protein mutations. **Exp Biol Med (Maywood)**. 2003; 228(9):1004-17.
- Lath R, Chacko G, Chandy MJ Determination of Ki 67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody **Neurol India** 2001; 49(2): 144-7
- Leung B, Iisma TP, Leung KC, Hort YJ, Turner J, Sheehy JP, Ho KK. Galanin in human pituitary adenomas: frequency and clinical significance. **Clin Endocrinol (Oxf)**. 2002; 56(3):397-403.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA The p53 tumor suppressor gene. **Nature** 1991; 351(6326)453-6.

- Liu S. Peptidergic innervation in pars distalis of the human anterior pituitary. **Brain Res.** 2004; 1008(1):61-8.
- Lloyd RV. Molecular pathology of pituitary adenomas. **J Neurooncol.** 2001; 54(2):111-9.
- López FJ, Merchenthaler I, Ching M, Wisniewski MG, Negro-Vilar A. Galanin: a hypothalamic-hypophysiotropic hormone modulating reproductive functions. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1991; 88(10):4508-12.
- Lundstrom L, Elmquist A, Bartfai T, Langel U. Galanin and its receptors in neurological disorders. **Neuromolecular Med.** 2005; 7(1-2):157-80.
- Maffei WE. As glândulas de secreção interna e sua fisiopatologia - Hipófise. In: Maffei WE. **Os Fundamentos da Medicina.** 1º ed. São Paulo: Fundo Editorial Prociencx; 1967. p.266-274.
- Mastronardi L, Guiducci A, Spera C, Puzzilli F, Liberati. Ki 67 labelling index and invasiveness among anterior pituitary adenomas: analisys of 103 cases using the MIB-1 monoclonal antibody. **J Clin Pathol** 1999; 52(2):107-111.
- Mastronardi LO, Guiducci A, Puzzilli F. Lack of correlation between Ki 67 labelling index and tumor size of anterior pituitary adenomas. **BMC Câncer** 2001;1(12)
- Moura EG, Moura CCP. Regulação da Síntese e Secreção de Tireotropina. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2004; 48(1):20-52.
- Muşat M, Vax VV, Borboli N, Gueorguiev M, Bonner S, Korbonits M, Grossman AB. Cell cycle dysregulation in pituitary oncogenesis. **Front Horm Res.** 2004; 32:34-62.
- Nam DH, Song SY, Park K, Kim MH, Suh YL, Lee JI, Kim JS, Hong SC, Shin HJ, Park K, Eoh W, Kim JH. Clinical significance of molecular genetic changes in sporadic invasive pituitary adenomas. **Exp Mol Med.** 2001; 33(3):111-6.
- Niverio M, Aranda I, Peiró G, Alenda C, Picó a. Immunohistochemical analisys of tumor angiogenic factors in human pituitary adenomas. **Human Pathol** 2005 36(10) 1090-1095.
- Ogino A, Yoshino A, Katayama Y, Watanabe T, Ota T, Komine C, Yokoyama T, Fukushima T. The p15(INK4b)/p16(INK4a)/RB1 pathway is frequently deregulated in human pituitary adenomas. **J Neuropathol Exp Neurol.** 2005; 64(5):398-403.

Ooi GT, Tawadros N, Escalona RM. Pituitary cell lines and their endocrine applications. **Mol Cell Endocrinol.** 2004; 228(1-2):1-21.

Osamura RY, Tahara S, Kurotani S, Sanno N, Matsuno A, Teramoto A. Contributions of immunohistochemistry and in situ hybridization to the functional analysis of pituitary adenomas. **J Histochem Cytochem.** 2000; 48(4):445-58.

Pei L, Melmed S, Scheithauer B, Kovacs K, Benedict WF, Prager D. Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma susceptibility gene (RB) locus in aggressive pituitary tumors: evidence for a chromosome 13 tumor suppressor gene other than RB. **Cancer Res.**1995; 55(8):1613-6.

Pellegrini I, Barlier A, Gunz G, Figarella-Branger D, Enjalbert A, Grisolli F, Jaquet P. Pit-1 gene expression in the human pituitary and pituitary adenomas **J Clin Endocrinol Metab.** 1994; 79(1):189-96.

Perry A, Scheithauer BW. Comentary: Classification and grading of pituitary tumors. Observations of two working neuropathologists **Acta Neuropathol** 111:68-70 2006.

Pirola GG, Pietranera L, Grillo CA, De Nicola FF. Gender differences in the expression of galanin and vasoactive intestinal peptide in oestrogen-induced prolactinomas of Fischer 344 rats. **J Neuroendocrinol.** 2004; 16(1):64-71.

Pizarro CB, Oliveira MC, Coutinho LB, Ferreira NP Measurement of ki 67 in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. **Braz J Med Biol Res** 2004; 37(2) 235-243

Ponchon M, Lause P, Maiter D. In Vitro Effects of Oestradiol on Galanin Gene Expression in Rat Anterior Pituitary Cells. **J Neuroendocrinol.** 2000; 12:559-64.

Rosner, B. - **Fundamentals of Biostatistics** - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584pp.

Sano T, Kovacs K, Asa SL, Yamada S, Sanno N, Yokoyama S, Takami H. Pituitary adenoma with "honeycomb Golgi" appearance showing a phenotypic change at recurrence from clinically nonfunctioning to typical Cushing disease. **Endocr Pathol.** 2002; 13(2):125-30.

Sano T, Mader R, Asa SL, Qian ZR, Hino A, Yamada S. "Honeycomb Golgi" in pituitary adenomas: not a marker of gonadotroph adenomas. **Endocr Pathol.** 2003; 14(4):363-8.

Schreiber S, Saeger W, Lüdecke DK Proliferations markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas. **Pituitary** 1999 1(3-4): 213-20.

Scheithauer BW, Gaffey T, Lloyd RV, Sebo Tj, Kovacs K, Horvath E, et al Pathobiology of pituitary adenomas and carcinomas. **Neurosurgery** 2006; 59(2) 341-353.

Simpson DJ, Frost SJ, Bicknell JE, Broome JC, McNicol AM, Clayton RN, Farrell WE. Aberrant expression of G(1)/S regulators is a frequent event in sporadic pituitary adenomas. **Carcinogenesis.** 2001; 22(8):1149-54.

Spada A, Vallar L, Faglia G. Celular alterations in pituitary tumors. **Eur J Endocrinol.** 1994; 130(1):43-52.

Suhardja A, Kovacs K, Rutka J. Role of transcription factors in the pathogenesis of pituitary adenomas: a review. **J Neurooncol.** 2001; 55(3):185-93.

Suliman M, Royds J, Cullen D, Timperley W, Powell T, Battersby R, Jones TH. Mdm2 and the p53 pathway in human pituitary adenomas. **Clin Endocrinol (Oxf).** 2001; 54(3):3 17-25.

Tatemoto K, Rökaeus A, Jörnvall H, McDonald TJ, Mutt V. Galanin - a novel biologically active peptide from porcine intestine. **FEBS Lett.** 1983 28;164(1):124-8

Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia-syndromes of the twentieth century. **J Clin Endocrinol Metab.** 1998; 83(8):2617-20.

Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneau L, Horvath E, Pernicone PJ, et al. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody **Neurosurgery** 1996a 38(1) : 99-107.

Thapar K, Scheithauer BW, Kovacs K, Pernicone PJ, Laws ER. P53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fractions. **Neurosurgery** 1996b; 38(4): 765-770.

Theodoropoulou M, Cavallari I, Barzon L, D'Agostino DM, T Ferro, Arzberger T, Grubler Y, Schaaf L, Losa M, Fallo F, Climinale V, Stalla GK, Pagotto U. Differential expression of menin in sporadic pituitary adenomas. **Endocr Relat Cancer** 2004; 11:333–44.

Tortorella C, Neri G, Nussdorfer GG Galanin in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (Review) **Int J Mol Med.** 2007 Apr;19(4):639-47.

Turner HE, Nagy Zs, Gatter KC, Erisi MM, Harris AL, Wass JAH. Angiogenesis in pituitary adenomas – relationship to endocrine function, treatment and outcome **J Endocrinol** 2000 165, 475-481.

Viacava P, Gasperi M, Acerbi G, Manetti L, Cecconi E, Bonadio AG, Naccarato AG, Acerbi F, Parenti G, Lupi I, Genovesi M, Martino E. Microvascular density and vascular endothelial growth factor expression in normal pituitary tissue and pituitary adenomas. **J Endocrinol Invest.** 2003; 26(1):23-8.

Vidal S, Kovacs K, Horvath E, Scheithauer BW, Kuroki T, Lloyd RV. Microvessel density in pituitary adenomas and carcinomas. **Virchows Arch.** 2001; 438(6):595-602.

Vrontakis ME. Galanin: a biologically active peptide. **Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.** 2002; 1(6):531-41.

Vrontakis ME, Peden LM, Duckworth ML, Friesen HG. Isolations and characterization of a complementary DNA (Galanin) clone from estrogen- induced pituitary tumor messenger RNA. **J Biol Chem.** 1987; 262(35):16755-8.

Wermer P. Genetic aspects of adenomatosis of endocrine glands. **Am J Med.** 1954; 16(3):363-71.

WHO - World Health Organization Pathology and genetics of tumors of endocrine organs. Edited by Delellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Lyon: IARC Press; 2004. 10-39.

Wolfsberger S, Wunderer J, Zachenhofer I, Czech T, Böcher-Schwarz HG, Hainfellner J, Knosp E. Expression of cell proliferation markers in pituitary adenomas – correlation and clinical relevance of MIB-1 and anti-topoisomerase II- α **Acta Neurochir** (Wien) 2004; 146:831-839.

Wolfsberger S, Knosp E Comments on the WHO 2004 classification of pituitary adenomas **Acta Neuropathol** 111:66-7 2006.

Woloschak M, Yu A, Xiao J, Post KD. Abundance and state of phosphorylation of the retinoblastoma gene product in human pituitary tumors. **Int J Cancer** 1996; 67(1):16-9.

Wrocklage C, Gold H, Hackl W, Buchfelder M, Fahlbusch R, Paulus W. Increased Menin expression in sporadic pituitary adenomas. **Clin Endocrinol (Oxf)**. 2002; 56(5):589-94.

Yamada S, Takada K. Angiogenesis in pituitary adenomas. **Microsc Res Tech**. 2003; 60(2):236-43.

Zhang X, Horwitz GA, Heaney AP, Nakashima M, Prezant TR, Bronstein MD, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. **J Clin Endocrinol Metab**. 1999; 84(2):761-7.

APÊNDICE

Tabela 10- Informações sobre os 61 casos

nº biopsia	sexo	idade	F/NF	síndrome	Sint neurol/psiq	hardy	imun hormonal	recidiva
8006/03	fem		F	acro,galac	Dv	IV	GH	S
1215/01	masc		F	acro		II	GH,PRL	S 2x
3202/96	masc		F	acro	cef, dv	II	GH,PRL	N
521/03	fem		F	acro,amen	cef, dv	IV	GH,PRL	S
3520/03	fem		F	acro	cef, dv,conf mental	IV	GH,PRL	S óbito
11923/05	masc		F	acro	cef,dv,	IV	GH,PRL	N
893/05	fem		F	acro,galac	cef, dv	III	GH,PRL	N
8679/01	fem		F	acro,galac	Cef	IV	GH,PRL	S
6451/00	masc		F	acro	Dv	II	GH,PRL,FSH	N
2171/99	fem		F	acro,amen	Cef	II	GH,PRL,FSH	S
692/00	masc		F	acro	dv,G40	IV	GH,PRL,FSH	S
8319/97	fem		F	acro		IV	GH,PRL,FSH	N
2995/96	fem		F	acro,dismenor	dv,conf mental	III	GH,PRL,FSH	N
2070/01	fem		F	galac,amen	dv,cef	II	PRL	S
9203/01	masc		F	galc.impot	Cef	II	PRL	N
5633/02	masc		F	galac,↓lib	Dv	IV	PRL	N
11544/99	fem		F	galac,amen	cef, dv	II	PRL,FSH,GH	S
3252/01	fem		F	galac,amen	cef,dv,	II	PRL,FSH,LH,GH,ACTH	S
5622/97	fem		F	galac	Dv	II	PRL,FSH	S 2x
1130/02	fem		F	S Cushing		I	ACTH	S
1689/02	fem		F	S Cushing, poliaden		I	ACTH	N
1395/04	fem		F	S Cushing, galac,hipot		II	ACTH	N
8521/05	fem		F	S Cushing, galac,amen	F 06.32	IV	ACTH	N
11289/02	masc		F	S Cushing		I	todos	N
8142/01	fem		F	S Cushing, amen		I	ACTH,GH,PRL	S
8078/03	masc		NF	pan hipo	Dv	IV	GH	S
6693/00	masc		NF		cef,↓força muscular	II	GH,PRL,TSH	N
1099/00	fem		NF		Dv	IV	GH,PRL,FSH	S
2741/99	masc		NF		Dv	IV	GH,PRL,FSH	S
5326/00	masc		NF		Dv	IV	PRL	óbito
1322/02	masc		NF		cef, dv	IV	PRL,FSH	S
7074/95	masc		NF		G40	IV	PRL,FSH	S
8034/98	masc		NF		G40	IV	PRL,FSH	S
7515/03	masc		NF		Cef	IV	ACTH	S
10531/02	masc		NF		Dv	II	ACTH	S
11167/00	fem		NF		cef,paral III,IV,VI	IV	ACTH	N
7870/02	fem		NF		cef, F06.32	II	ACTH,FSH	S
4147/02	masc		NF		dv,confusão mental	II	ACTH,FSH, LH	S
3207/04	fem		NF		Dv	II	ACTH,FSH, LH	S
3547/01	masc		NF		cef,G40,hipoacusia	IV	FSH	N
3896,54/9	fem		NF		dv,dist comportam	IV	FSH	óbito
12341/03	masc		NF		Dv	II	LH	N
2051/96	masc		NF		Dv	II	FSH,LH	S
10126/00	fem		NF		cef,amaurose, G40	II	FSH,LH	N
10481/01	masc		NF		cef,dv,	II	FSH,LH	N
10111/98	masc		NF		Dv	IV	FSH,LH	S
3027/00	masc		NF		cef,dv,	III	FSH,LH	óbito

7820/01	fem	NF	cef,dv,	IV	FSH,LH	S
4403/02	masc	NF	Dv	IV	FSH,LH	S
1716/01	fem	NF	cef,dv,nauseas,vomito	IV	FSH,LH	N
4682/02	masc	NF	disfasia,↓memória	III	FSH,LH	óbito
1753/96	masc	NF	amaurose, hipoestesia	III	FSH,LH	S
3063/06	fem	NF	cef,dv	III	FSH,LH	N
5786/06	fem	NF	Dv	III	FSH,LH	N
7580/06	fem	NF	Dv	III	LH	S
8990/06	fem	NF	Dv	III	GH, ACTH,FSH	N
9959/06	masc	NF	Dv	III	FSH,LH	S
7596/01	masc	NF	cef,dv,	IV	Null	N
9233/02	masc	NF	cef,↓muscular,dv	III	Null	óbito
10758/97	fem	NF	cef,dv,fonofobia,parest	III	Null	S
12200/98	masc	NF	Cef	IV	Null	S

Abreviaturas: F= funcionante; NF não funcionante; cef= cefaléia; dv= distúrbio visual; F06.32= depressão; G40= crises convulsivas; dist comportam= distúrbio de comportamento; ↓ lib= diminuição da libido; ↓muscular= redução da força muscular; parest= parestesia; conf mental= confusão mental; impot= impotência sexual; galac= galactorréia; amen= amenorréia; poliad= poliadenomas; GH= hormônio do crescimento; PRL=prolactina; ACTH= hormônio adrenocorticotrófico; FSH= hormônio foliculoestimulante; LH= hormônio luteinizante; null= células nulas; S=sim; N=não; paral=paralisia.

Tabela 11a- Adenomas hipofisários negativos para imunoistoquímica com o anticorpo menin

sexo	idade	síndrome/ sint neurológic	F/NF	imun hormonal	hardy	menin
masc		acro	F	GH,PRL	II	N
fem		acro,amen	F	GH,PRL	IV	N
masc		acro	F	GH,PRL	IV	N
fem		acro,galac	F	GH,PRL	III	N
masc		acro	F	GH,PRL,FSH	II	N
fem		acro,amen	F	GH,PRL,FSH	II	N
masc		acro	F	GH,PRL,FSH	IV	N
fem		galac,amen	F	PRL,FSH,LH,GH,ACTH	II	N
fem		S Cushing, poliaden	F	ACTH	I	N
fem		S Cushing, galac,amen	F	ACTH	IV	N
masc		pan hipop/ dv	NF	GH	IV	N
fem		cef, dv	NF	GH,PRL,TSH,ACTH	IV	N
fem		dv	NF	GH,PRL,FSH	IV	N
masc		dv	NF	GH,PRL,FSH	IV	N
masc		cef, dv	NF	PRL,FSH	IV	N
masc		dv, G 40	NF	PRL,FSH	IV	N
masc		dv	NF	ACTH	II	N
masc		dv	NF	LH	II	N
masc		dv	NF	FSH,LH	II	N
masc		disfasia, ↓memória	NF	FSH,LH	III	N
masc		cef	NF	null	IV	N

Legenda : F= funcionante; NF não funcionante; cef= cefaléia; dv= distúrbio visual; G40= crises convulsivas; galac= galactorréia; amen= amenorréia; poliad= poliadenomas; GH= hormônio do crescimento; PRL=prolactina; ACTH= hormônio adrenocorticotrófico; FSH= hormônio foliculoestimulante; LH= hormônio luteinizante; null= células nulas;N = negativo..

Tabela 11b- Adenomas hipofisários positivos para imunistoquímica com anticorpo Menin

sexo	idade	sintomatologia	hardy	status funcional	imunistoquímica	Menin
fem		acro,galac	IV	F	GH	PC
masc		acro	II	F	GH,PRL	PC
fem		acro	IV	F	GH,PRL	PC
fem		acro,galac	IV	F	GH,PRL	PN
fem		acro	IV	F	GH,PRL,FSH	PN
fem		acro,dismenor	III	F	GH,PRL,FSH	PNC
fem		galac,amen	II	F	PRL	PC
masc		galc.impot	II	F	PRL	PN
masc		galac,↓lib	IV	F	PRL	PC
fem		galac,amen	II	F	PRL,FSH,GH	PNC
fem		galac	II	F	FSH	PN
fem		S Cushing	I	F	ACTH	PC
fem		S Cushing, galac,hipot	II	F	ACTH	PC
masc		S Cushing	I	F	todos	PC
fem		S Cushing, amen	I	F	ACTH,GH,PRL	PN
masc		cef,↓força muscular	II	NF	GH,PRL,TSH	PC
masc		dv	IV	NF	PRL	PN
masc		dv, convuls	IV	NF	PRL,FSH	PN
masc		cef	IV	NF	ACTH	PC
fem		cef,paral III,IV,VI	IV	NF	ACTH	PN
fem		cef, F6.32	II	NF	ACTH,FSH	PC
masc		dv,confusão mental	II	NF	ACTH,FSH, LH	PC
fem		dv	II	NF	ACTH,FSH, LH	PN
masc		cef, G 40,hipoacusia	IV	NF	FSH	PN
fem		dv,dist comportam	IV	NF	FSH	PNC
fem		cef,amaurose, G40	II	NF	FSH,LH	PC
masc		cef,dv,	II	NF	FSH,LH	PNC
masc		dv	IV	NF	FSH,LH	PN
masc		cef,dv,	III	NF	FSH,LH	PNC
fem		cef,dv,	IV	NF	FSH,LH	PC
fem		cef,dv,nauseas,vomito	IV	NF	FSH,LH	PC
masc		amaurose, hipoestesia	III	NF	FSH,LH	PN
fem		cef,dv	III	NF	FSH,LH	PN
fem		dv	III	NF	FSH,LH	PN
fem		dv	III	NF	LH	PN
fem		dv	III	NF	GH, ACTH,FSH	PN
masc		dv	III	NF	FSH,LH	PN
masc		cef,dv,	IV	NF	Null	PN
masc		cef,↓muscular,dv	III	NF	Null	PC
fem		cef,dv,fonofobia,parest	III	NF	Null	PN

Legenda: F= funcionante; NF não funcionante; cef= cefaléia; dv= distúrbio visual; F 6.32= depressão; G40= crises convulsivas; dist comportam= distúrbio de comportamento; ↓muscular= redução da força muscular; parest= parestesia; conf mental= confusão mental; galac= galactorréia; amen= amenorréia; poliad= poliadenomas; GH= hormônio do crescimento; PRL=prolactina; ACTH= hormônio adrenocorticotrófico; FSH= hormônio foliculoestimulante; LH= hormônio luteinizante; null= células nulas; paral=paralisia. PN = positividade nuclear; PNC= positividade nuclear e citoplasmática; PC = positividade citoplasmática